



Universidad
Zaragoza

PROYECTO FIN DE CARRERA

INGENIERÍA TÉCNICA INDUSTRIAL, especialidad QUÍMICA INDUSTRIAL

DETERMINACIÓN DEL CONTENIDO EN IÓN FLUORURO EN VINOS MEDIANTE ELECTRODO SELECTIVO

Autor

ADRIANA CABALLERO MÁÑEZ

Director

Dr. JESÚS VELA RODRIGO

ESCUELA DE INGENIERÍA Y ARQUITECTURA, UNIVERSIDAD DE ZARAGOZA

Diciembre 2014

RESUMEN

El flúor es el elemento más electronegativo, y por un margen importante, el elemento más enérgico de la familia de los halógenos, lo que lo hace ser muy reactivo y, en determinadas ocasiones y dosis, muy tóxico. En disolución acuosa, el flúor suele aparecer en forma del ion fluoruro (F^-), generalmente -aunque no siempre- formando fluoruros.

El flúor es un elemento muy importante que -junto con otros- condiciona la existencia de la raza humana, ya que es un oligoelemento imprescindible para la formación de huesos y dientes, haciendo más resistente al organismo frente a la descalcificación y siendo el único agente eficaz para la prevención de las caries.

Sin embargo, esa toxicidad de la que se ha hablado hace que, por encima de los límites óptimos, origine fluorosis en los dientes y huesos, así como daños en los sistemas renal, nervioso y muscular. Además una presencia excesiva de fluoruro en el organismo podría llevar al acomplejamiento de ciertos metales en enzimas y el consiguiente deterioro en el funcionamiento de las mismas.

La población puede estar expuesta a los fluoruros en el aire, en el agua y en los suelos y, por consiguiente, es habitual encontrarlo en aguas de consumo humano y en alimentos, tanto sólidos como líquidos.

De entre los alimentos -líquidos- más típicos de la dieta mediterránea, posiblemente el vino sea la bebida que goza de mayor popularidad en España. Históricamente, ya los antiguos egipcios elaboraban vino a partir de cepas de uva, si bien fue el imperio romano el que “popularizó” definitivamente su consumo.

Es un hecho que el ión fluoruro forma parte de la composición del vino y, en consecuencia, es necesario determinar la concentración de fluoruros en su seno con objeto de conocer su aportación a la dieta y así no sobrepasar la dosis máxima recomendada que podría repercutir en la salud del individuo (no se olvide que existen otras “aportaciones” de fluoruro, tanto desde la dieta alimenticia como, por ejemplo, desde la profilaxis dental)

En este contexto, el presente proyecto fin de carrera persigue la determinación cuantitativa del contenido en ión fluoruro de distintos tipos de vinos (tintos, blancos y rosados) procedentes de distintas zonas de la península ibérica. Esta caracterización se ha basado en la utilización de un electrodo selectivo de iones fluoruro como técnica de análisis y distintas metodologías de calibración, entre las que se incluyen la calibración con patrones externos y por adición de patrón (de un solo patrón y de una serie de patrones). Los resultados obtenidos por esas metodologías de calibración se han comparado entre si y también frente a datos obtenidos por otros autores para distintos tipos de vinos.

ÍNDICE

1. INTRODUCCIÓN	5
1.1. VINO.....	5
1.1.1. ¿QUÉ ES EL VINO?.....	5
1.1.2. UN POCO DE HISTORIA	5
1.1.3. COMPOSICIÓN DEL VINO.....	6
1.1.3.1. COMPOSICIÓN DE LA UVA “VITIS VINÍFERA”	6
1.1.3.2. COMPOSICIÓN DEL MOSTO.....	8
1.1.3.3. COMPOSICIÓN FINAL DEL VINO	9
1.1.4. CLASIFICACIÓN DEL VINO	12
1.1.4.1. VINO TINTO.....	13
1.1.4.2. VINO BLANCO	14
1.1.4.3. VINO ROSADO.....	14
1.1.5. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL VINO	14
1.1.5.1. ESPECIFICACIONES VINO TINTO	18
1.1.5.2. ESPECIFICACIONES VINO BLANCO	18
1.1.5.3. ESPECIFICACIONES VINO ROSADO	19
1.1.6. VENTAJAS E INCONVENIENTES DE SU CONSUMO	20
1.1.7. DIFERENCIAS ENTRE DISTINTAS DENOMINACIONES DE ORIGEN	21
1.2. FLÚOR	24
1.2.1. DESCUBRIMIENTO	24
1.2.2. FUENTES NATURALES. YACIMIENTOS DE FLÚOR.	24
1.2.3. AISLAMIENTO DEL FLÚOR.....	24
1.2.4. DESCRIPCIÓN Y PROPIEDADES QUÍMICAS.....	25
1.2.5. INFLUENCIAS DEL IÓN FLUORURO EN LA SALUD HUMANA.....	26
1.2.5.1. BENEFICIOS	27
1.2.5.2. INCONVENIENTES	28
1.2.5.3. DOSIS MÁXIMA TOLERABLE	29
1.2.6. INFLUENCIAS AMBIENTALES DEL IÓN FLUORURO	29
1.2.7. INFLUENCIA DEL IÓN FLUORURO EN EL VINO.....	30
1.2.7.1. FLUORUROS EN LOS SUELOS DE CULTIVO.....	30
1.2.7.2. FLURORUROS EN EL AGUA	31
1.2.7.3. DOSIS MÁXIMA DE IÓN FLUORURO EN EL VINO	32
2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS	33
3. ELECTRODO SELECTIVO DE IONES FLUORURO	35
3.1. DESCRIPCIÓN GENERAL	35
3.2. DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA PARA IONES FLUORURO	36
4. MÉTODOS DE ANÁLISIS	38

4.1. CALIBRACIÓN CON PATRÓN EXTERNO.....	38
4.2. CALIBRACIÓN POR ADICIÓN DE PATRÓN	38
5. OBJETIVOS	40
6. EXPERIMENTAL	41
6.1. MATERIALES.....	41
6.2. REACTIVOS	41
6.3. MUESTRAS	42
6.4. EQUIPOS.....	42
6.5. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO UTILIZADO.....	44
6.5.1. PREPARACIÓN DE LOS PATRONES	44
6.5.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS (VINOS)	45
6.5.3. MEDIDA DE LAS MUESTRAS.....	45
7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN	47
7.1. ENSAYOS PREVIOS.....	47
7.2. CALIBRACIÓN CON PATRONES EXTERNOS	49
7.2.1. VINO TINTO.....	52
7.2.2. VINO BLANCO	54
7.2.3. VINO ROSADO.....	56
7.3. CALIBRACIÓN POR ADICIÓN DE PATRÓN	58
7.3.1. PENDIENTE TEÓRICA.....	58
7.3.1.1. VINO TINTO.....	60
7.3.1.2. VINO BLANCO	62
7.3.1.3. VINO ROSADO.....	64
7.3.2. PENDIENTE REAL.....	66
7.3.2.1. VINO TINTO.....	66
7.3.2.2. VINO BLANCO	67
7.3.2.3. VINO ROSADO.....	67
7.4. CALIBRACIÓN POR ADICIÓN DE UNA SERIE DE PATRONES	67
7.4.1. VINO TINTO.....	68
7.4.2. VINO BLANCO	69
7.4.3. VINO ROSADO.....	69
7.5. COMPARACIÓN DE RESULTADOS.....	70
7.5.1. POR MÉTODO UTILIZADO	70
7.5.2. POR COLOR DEL VINO	71
7.5.3. POR REGIÓN DE CULTIVO DEL VINO.....	73
7.5.4. COMPARACIÓN CON OTRAS REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	75
8. CONCLUSIONES.....	78
9. BIBLIOGRAFÍA	79

1. INTRODUCCIÓN

1.1. VINO

1.1.1. ¿QUÉ ES EL VINO?

El **vino** (del latín “*vinum*”) es la bebida resultante de la fermentación alcohólica completa o parcial de la uva fresca “*Vitis vinífera*” (estrujada o no), o del mosto de uva. Su graduación alcohólica adquirida no puede ser inferior a 8,5% vol. El vino es la suma de un conjunto de factores como: condiciones climáticas, latitud, altitud, horas de exposición al sol, temperatura, condiciones del terreno, tradiciones propias de ciertos viñedos, etc.

Sin embargo, teniendo en cuenta estos factores, el grado alcohólico total mínimo podrá ser rebajado a 7% vol. por una legislación particular de la región considerada.
(1)

1.1.2. UN POCO DE HISTORIA

Algunos historiadores suponen que el hombre conoció el vino antes de que supiera cultivar las uvas, posiblemente, desde que el género *vitis*, que comprende todas las vides domésticas, hiciera su aparición en la era Terciaria, periodo de los primeros mamíferos. La vid era entonces una planta salvaje, de la que brotaban unas bayas, pequeñas y ácidas que se recogían como las de otras especies vegetales y se consumían directamente.

Pero la *vitis vinífera*, única que produce vinos de calidad, aparece mucho más tarde en el Cáucaso y en el Oriente Próximo. Desde Israel, Mesopotamia y Egipto, la vid vinífera fue extendiéndose por todo el Mediterráneo, impulsando el desarrollo de la cultura del vino. Mucho más tarde españoles, portugueses, franceses e italianos trasladarán esta herencia a América y Sudáfrica. Los ingleses la llevarán a Australia y Nueva Zelanda extendiéndose así por todo el mundo.

En el antiguo Egipto el vino figura en primer lugar dentro del intercambio comercial de aquella época. Los egipcios recogían las uvas de las vides plantadas en los jardines del río Nilo, en cestas de junco prensado, que eran pisadas por los pies de los esclavos y una vez fermentado era trasvasado a jarras o ánforas de diverso tamaño, a veces muy grandes, para su consumo o transporte en naves. En la época de los griegos el viñedo no recibía grandes atenciones, pero la bondad del clima daba gran cantidad de frutos. El vino resultante jamás se bebía en estado puro, era mezclado generosamente con agua, miel y tomillo entre otras sustancias.

Más tarde los etruscos consumirían vino natural sin añadidura de agua, aunque los romanos posteriormente volverían a elaborarlo a la manera griega, añadiendo agua, infusiones de hierbas, miel y otros edulcorantes.

Fueron los romanos quienes tomaron el relevo para la expansión del vino. Ya en esta época comienzan a dictarse normas para la elección de variedades más adecuadas, propiedades del terreno y observaciones del clima.

Tras la caída del imperio romano, las órdenes religiosas recuperan la cultura del vino. Con la propagación de la fe, los nuevos apóstoles no olvidan extender el comercio del vino, la plantación de nuevos viñedos, haciendo progresar las técnicas de elaboración y crianza. En la Edad Media, los señores feudales cultivaban sus parcelas para obtener de ellas el vino. También las obras literarias y las recomendaciones religiosas de la época tenían su parcela dedicada al vino.

La Edad Media dejó su huella en las labores más artesanas y pacientes de la viña y de la bodega. Algunas de estas prácticas y artes se han mantenido, casi sin variación, hasta la mitad del siglo XX. (13)

1.1.3. COMPOSICIÓN DEL VINO

Para comprender lo que es el vino desde el punto de vista de sus componentes hay que distinguir tres etapas en las que los compuestos constituyentes varían: cuando es todavía una uva, cuando es mosto y posteriormente cuando ya es vino tal y como se conoce.

1.1.3.1. COMPOSICIÓN DE LA UVA “*VITIS VINÍFERA*”

La uva es comestible y materia prima para la fabricación de vino, así como uno de los frutos más apreciados, nutritivos y rico en vitamina C.

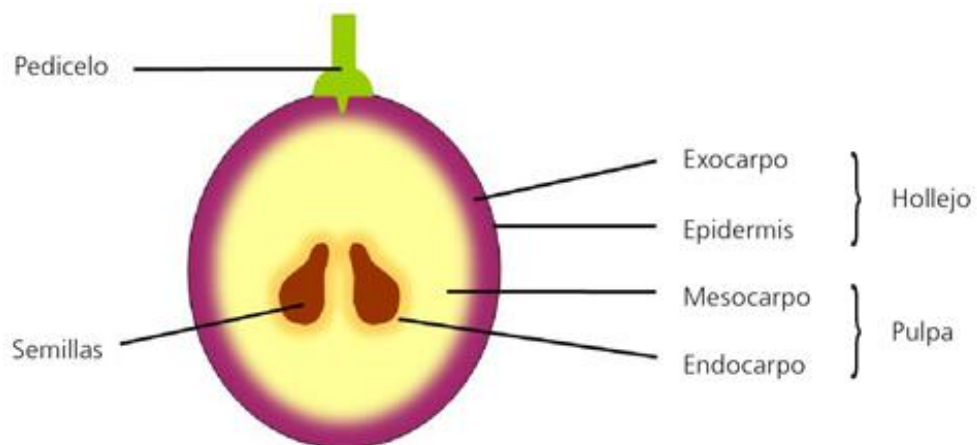


Figura 1. Partes de la uva.

En la uva pueden apreciarse partes bien diferenciadas como refleja la figura 1. Pudiendo hablar así de pepita o semilla, pulpa y cáscara. (12)

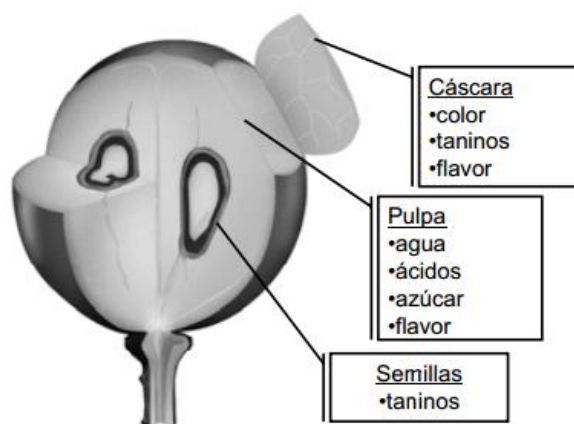


Figura 2. El grano de uva.

La composición de cada una de estas partes queda reflejada en las siguientes tablas:

Componente	Tanto por ciento (%)
Agua	70-80
Azúcar	1
Ácidos	1
Sustancias minerales	1,5-2
Sustancias aromáticas	Elevado
Sustancias nitrogenadas	10-15
Celulosa y pectinas	2-2,5

Tabla 1. Composición cáscara.

Componente	Tanto por ciento (%)
Agua	70-78
Azúcar	12-25
Ácidos orgánicos libres	0,3-0,6
Ácidos salificados	0,3-1
Sustancias minerales	0,2-0,3
Sustancias aromáticas	Bajo
Sustancias nitrogenadas	0,1
Pectinas	0,05-0,1
Compuestos fenólicos	Bajo

Tabla 2. Composición pulpa.

Componente	Tanto por ciento (%)
Agua	25-45
Azúcar	34-36
Aceites (oleico y linoleico)	13-20
Compuestos fenólicos	4-6
Sustancias minerales	2-4
Sustancias aromáticas	4-6
Sustancias nitrogenadas	Bajo

Tabla 3. Composición semilla.

En la siguiente figura se puede ver el proceso de maduración de la uva a lo largo de cuatro meses y en función de su crecimiento. (11)

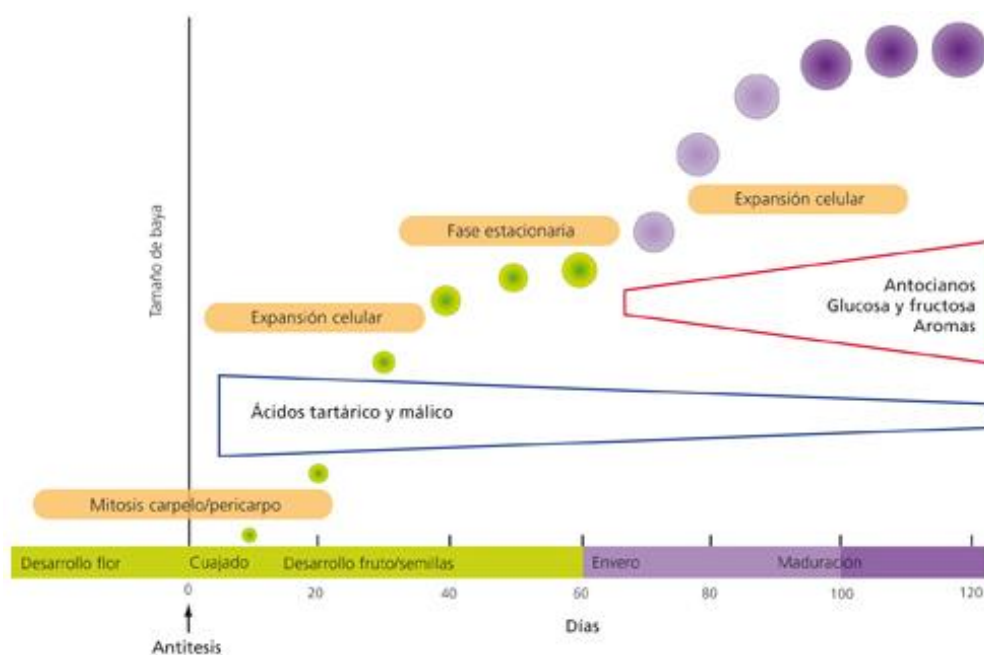


Figura 3. Desarrollo y maduración de la uva. El esquema indica los procesos de división y expansión celular implicados, así como la acumulación de las moléculas más relevantes.

1.1.3.2. COMPOSICIÓN DEL MOSTO

El mosto es el zumo de la uva que contiene diversos elementos de la uva como pueden ser la piel y las semillas. Los componentes asociados al mosto son:

Agua

El agua es el componente mayoritario del vino con unas proporciones que oscilan entre el 75-90% del total. Se trata de agua procedente de la uva, en ningún momento se añade de forma artificial.

Azúcares. Hidratos de carbono

La concentración de azúcar en la uva o en el mosto se mide en grados Baumé. Están especialmente representados por dos monosacáridos: GLUCOSA y FRUCTOSA, que pertenecen al grupo de las hexosas.

Se sintetizan directamente mediante hidrólisis de la sacarosa en todas las partes herbáceas de la planta, principalmente en las hojas, dando lugar a la formación de glucosa y fructosa; se sintetizan indirectamente mediante hidrólisis del almidón, el cual actúa como reserva.

Son fermentables ya que las levaduras los transforman en alcohol.

Otros hidratos de carbono:

- Monosacáridos: Hexosas (D-galactosa) y pentosas (L-arabinosa, D-xilosa, D-ribosa, L-ramnosa).
- Pentosas: Trehalosa, melibiosa, lactosa, maltosa, sacarosa. (22)

1.1.3.3. COMPOSICIÓN FINAL DEL VINO

A día de hoy se puede decir que la complejidad molecular del vino está aún por desvelar. La gran cantidad de compuestos que lo constituyen puede ser aún mayor si se considera globalmente la gran diversidad de tipos de vinos existentes. Una gran parte de estas moléculas tienen su origen en precursores que se hallan en la uva y, por ello, la elaboración de un vino de calidad requiere una uva en óptimos estados sanitario y de maduración. (11)

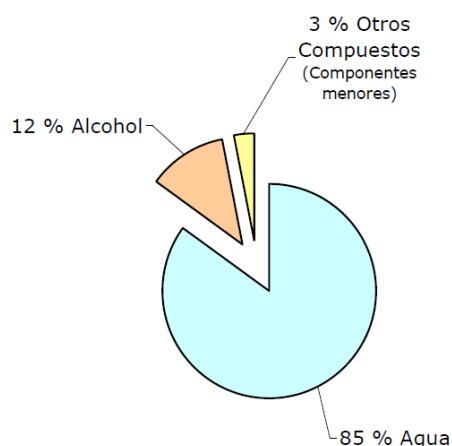


Figura 4. Componentes mayoritarios del vino.

Así bien, los componentes que pueden encontrarse en mayor medida en esta fase final del proceso son los siguientes, y son los correspondientes al vino tal y como se conoce.

Agua

El agua es el componente mayoritario del vino con unas proporciones que oscilan entre el 80-90% del total. (11)

Hidratos de carbono

Los azúcares no consumidos tras la fermentación se suelen denominar azúcares residuales (suelen ser pentosas como la arabinosa, la ramnosa y la xilosa). La concentración de estos azúcares residuales puede aumentar durante la maduración en madera debido a la escisión de moléculas de glucósidos presentes en la madera.

El azúcar residual es importante en la tonalidad dulce de un vino, mientras que la presencia de azúcares no residuales afecta sólo a la fermentación.

La relación glucosa/fructosa disminuye regularmente con la fermentación, como consecuencia de la mayor actividad de las levaduras en la degradación de la glucosa. $G/F < 1,0$

A continuación se presenta la clasificación de los citados hidratos de carbono:

- Monosacáridos: Hexosas (D-galactosa) y pentosas (L-arabinosa, D-xilosa, D-ribosa, L-ramnosa).
- Disacáridos: Trehalosa, melibiosa, lactosa, maltosa, sacarosa.

Ácidos orgánicos

Son los responsables del carácter ácido del vino.

Los ácidos tartárico y málico representan el 90% de la acidez total del mosto.

Los principales son:

- Ácido tartárico:
Es el ácido más abundante en vinos y el más fuerte. El pH del vino depende, en gran medida, de su contenido en ácido tartárico.
La disminución de la concentración de ácido tartárico en el vino se debe a la menor solubilidad de los tartratos en presencia de etanol.
- Ácido málico:
Su concentración disminuye durante la fermentación alcohólica y maloláctica.
- Ácido cítrico:
Su contenido disminuye durante la fermentación maloláctica debido a la acción de las bacterias lácticas, originando ácido acético.

Otros ácidos orgánicos:

No juegan un papel importante en la acidez, pero participan en mecanismos complejos, algunos de los cuales influyen en los caracteres organolépticos de los vinos.

Algunos ácidos orgánicos producidos en la fermentación son el láctico, succínico y acético.

Alcoholes

El etanol es, después del agua, el constituyente más importante del vino. Este procede de la fermentación alcohólica del azúcar del mosto. A parte del etanol pueden encontrarse otros alcoholes entre los componentes del vino, siendo los más significativos el metanol, con una concentración media de 0,1 g/L y el 3-metil 1-butanol cuya concentración media es de 0,2 g/L.

El resto de alcoholes que pueden encontrarse no superan concentraciones medias de 0,05 g/L siendo algunos ejemplos el 2-feniletanol, 2-metil 1-butanol y 1-propanol.

Cabe destacar también el glicerol que puede considerarse como el constituyente químico del vino más importante después del agua y del etanol, aportando sensación de untuosidad y suavidad. Siendo el responsable de las famosas “lágrimas del vino”.

Sustancias nitrogenadas

Enzimas

Vitaminas

C, bloqueante de la oxidación de los constituyentes del vino (polifenoles).

B, intervienen en la fermentación alcohólica como activadores e influyen en el desarrollo de las levaduras.

Sustancias minerales

Proceden del suelo y principalmente encontramos aniones fluoruros, cloruros, sulfatos y fosfatos, y cationes como potasio, calcio, sodio, magnesio, manganeso, hierro, cobre y cinc.

Sustancias pécticas

Sustancias aromáticas

Compuestos fenólicos

Son responsables del color y de gran parte del sabor de los vinos tintos. Podemos clasificarlos en dos grupos:

- Pigmentos (flavonoides)
 - Antocianos: color rojo o azul en las variedades tintas.
 - Flavonoles: color amarillo en variedades tintas y blancas.
 - Flavanoles: color amarillo, amargor, astringencia, estructura, cuerpo y estabilidad del vino en variedades tintas y blancas.
- Compuestos incoloros (no flavonoides)
 - Ácidos fenólicos: benzoicos y cinámicos en variedades tintas y blancas.
 - Estilbenos. (22)

1.1.4. CLASIFICACIÓN DEL VINO

Existen múltiples opciones para clasificar un vino, en función de su color (tinto, rosado, blanco), su envejecimiento (crianza, reserva, gran reserva, añejo, noble, viejo, etc.), su contenido en azúcar (secos, semi-secos, abocados, dulces y semi-dulces), la variedad de uva, contenido de alcohol, contenido de dióxido de carbono, etc. (2)(3)

Sería muy extenso abordar todas y cada una de esas clasificaciones, es por ello que, de acuerdo a la naturaleza de este proyecto, se ha optado tan solo por la clasificación de los diferentes tipos de vino según su color, obteniendo así tres variedades a tener en cuenta: **vino tinto, vino blanco y vino rosado**.

¿De qué dependen cada uno de estos colores característicos?

Tanto el mosto de la uva blanca como el de la uva tinta es incoloro. Los pigmentos de esta fruta se encuentran en la piel de la misma, y no en la pulpa. Cuando la uva llega a la bodega, se prensa y en este proceso una mínima parte de los pigmentos pasan al mosto.

En el caso de la uva blanca, se separa la piel del mosto y se fermenta únicamente el mosto, obteniendo el **vino blanco**.

La uva tinta se prensa también, pero la piel se deja en el mosto durante la fermentación lo que provoca que los pigmentos pasen al mosto produciendo el **vino tinto**. Entre las tintas existe una variedad única, llamada “tintorera” que contiene pigmentos también en la pulpa, y se utiliza mezclada con otras variedades para incrementar el color de los vinos.

El **vino rosado** se consigue añadiendo al mosto blanco la piel de uva tinta que ya ha perdido parte de estos pigmentos, por lo que durante la fermentación el vino adquiere los mismos pigmentos que el vino tinto, pero en menor cantidad.

Tanto de uva tinta como de uva blanca existen decenas de variedades diferentes que dan lugar a la gran variedad de vinos que pueden encontrarse en el mercado. (4)

1.1.4.1. VINO TINTO

La característica principal de la vinificación del vino tinto es que el mosto fermenta en contacto con las partes sólidas de la vendimia (hollejos y pepitas).

Los mostos tintos suelen fermentar a una temperatura cercana a los 25°C para conseguir extraer el máximo color posible. En la fermentación maloláctica o segunda fermentación tiene lugar la degradación de ácido málico, obteniéndose ácido láctico y cambiando el perfil sensorial del vino, matizándose los aromas y evolucionando el “bouquet” hacia un vino menos ácido. (5)

En concreto, en el vino tinto el color tiene mayor influencia, ya que varía mucho en función de la edad del vino. En la siguiente figura puede observarse el espectro de absorción y el aspecto visual de tres vinos tintos de diferente edad (1, 5 y 20 años).



Figura 5. Evolución del color vino tinto.

En la figura se puede apreciar que el espectro del vino joven presenta un máximo a 520 nm, correspondiente al color rojo, y unas componentes amarillas (420 nm) y azules (620 nm) relativamente importantes. Por esta razón, el vino presenta un color rojo intenso con tonalidades violáceas. El vino de 5 años, presenta una componente roja menor y una componente amarilla mayor, luego presentará un color rojo teja. Finalmente, el vino de

20 años presentará una componente roja de color muy pequeña y una componente amarilla relativamente más alta. Por tanto, su color se acercará al marrón. (10)

1.1.4.2. VINO BLANCO

La principal característica de la elaboración de los vinos blancos es que la fermentación transcurre sobre el mosto limpio, por lo que primero la uva blanca se despallilla y se prensa, obteniéndose así el mosto que pasa a separarse de todos los sólidos en suspensión antes de iniciar la fermentación. La fermentación de los mostos blancos suele rondar los 16°C, pues las temperaturas más altas conllevan una pérdida de aromas primarios asociados estos a cada una de las diferentes variedades. (5)

1.1.4.3. VINO ROSADO

Para la elaboración de vino rosado se utilizan uvas tintas, de manera que el tiempo de contacto entre el mosto y los hollejos suele ser de horas (más horas de contacto, más color en el vino), siendo esto suficiente para darle la coloración deseada al mosto que se fermenta totalmente limpio, como si se tratase de un mosto blanco, pero obteniendo un vino rosado. Por el mismo motivo que en el caso de los vinos blancos la temperatura de fermentación de los mostos suele rondar los 16°C. (5)

1.1.5. PROCESO DE ELABORACIÓN DEL VINO

El proceso general de elaboración del vino puede observarse en la Figura 6. Este proceso consta de diversas etapas que pueden agruparse en: pre-fermentación, fermentación y post-fermentación.

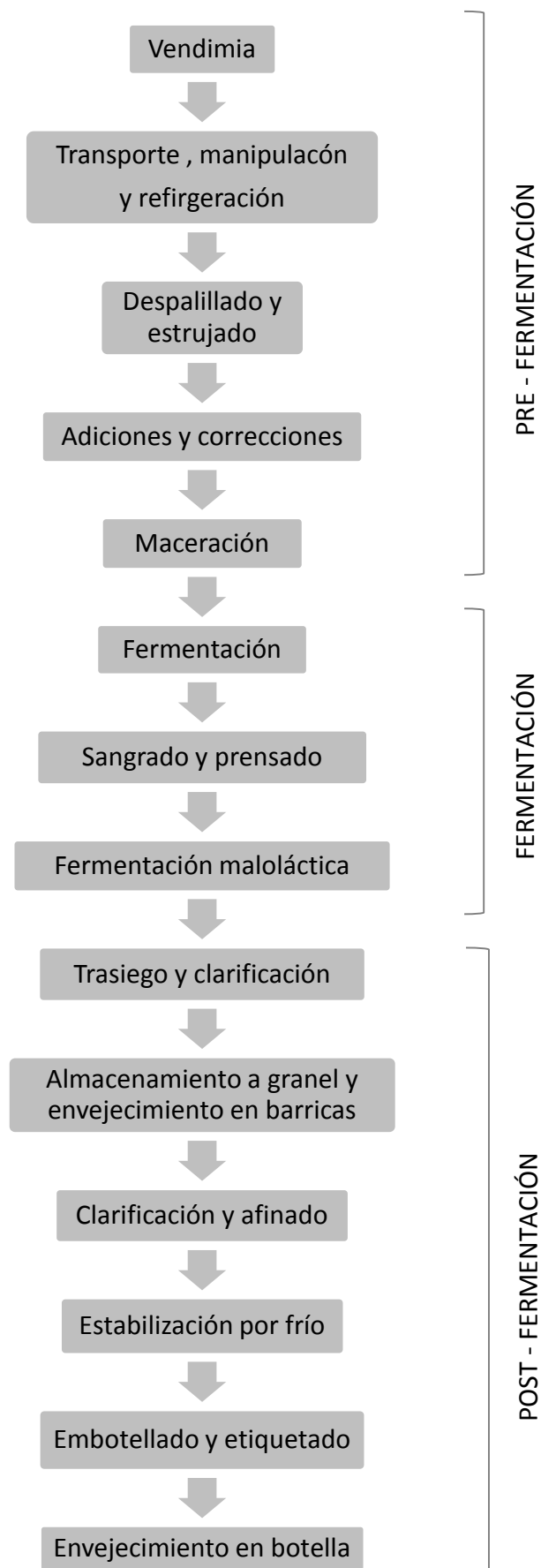


Figura 6. Diagrama de flujo del proceso de elaboración del vino.

La pre-fermentación cuenta con las siguientes etapas:

Vendimia

Es el primer paso. Las uvas son vendimiadas y cuando estas maduran, el contenido en ácidos disminuye y se incrementa el contenido en azúcares. Las uvas pueden ser vendimiadas manual o mecánicamente.

Transporte, manipulación y refrigeración

Las uvas deben ser tratadas con cuidado para evitar los daños que puedan provocar el crecimiento de microorganismos indeseables y la aparición del pardeamiento oxidativo.

Despalillado y estrujado

El despalillado conlleva la eliminación de los raspones, los pedúnculos y las hojas, minimizando así la extracción de compuestos que se consideran negativos en los vinos. Las uvas se estrujan inmediatamente después del despalillado de forma tan suave como sea posible, ya que una presión excesiva podría dañar las pepitas. Con el estrujado las uvas se rompen liberando el zumo. Esto facilita el inicio de la fermentación, ya que las levaduras tienen fácil acceso al azúcar del mosto.

Adiciones y correcciones

Antes de la fermentación pueden hacerse varias correcciones en el mosto, dependiendo de las reglas y condiciones locales.

Maceración

Es el proceso de reblandecer o sumergir los hollejos y las semillas en el mosto liberado en el estrujado de las uvas. La eficiencia de la maceración depende de la temperatura, del tiempo de contacto y de la cantidad de agitación que los sólidos y el mosto macerado reciben.

El tiempo de maceración depende del vino a elaborar y tanto la temperatura como la agitación son controladas.

La siguiente fase del proceso corresponde a la fermentación y consta de 3 etapas:

Fermentación

Etapas durante la cual los azúcares fermentables presentes en el mosto se convierten por las levaduras en etanol y dióxido de carbono, con generación de calor.

El proceso fermentativo depende de forma importante de la temperatura. Durante el mismo se producen muchas de las características aromáticas de los vinos acabados.

La fermentación normalmente se lleva a cabo en grandes depósitos de acero inoxidable cerrados, con control de la temperatura. El tiempo de fermentación aumenta al disminuir la temperatura.

Las levaduras de fermentación se encuentran de forma natural en las uvas pudiendo empezar la fermentación a 18°C, sin embargo, cada vez más se emplean levaduras comerciales.

Sangrado y prensado

Las uvas se separan de sus hollejos cuando ha transcurrido el tiempo adecuado de maceración (la fermentación puede o no haber terminado) ya sea mediante sangrado del mosto sin ejercer ninguna presión sobre los hollejos de las uvas o mediante prensado, operación por la que se obtiene el zumo que permanece mezclado con las partes sólidas.

Fermentación maloláctica

En esta etapa las bacterias lácticas convierten el ácido málico de sabor duro en el ácido láctico de sabor más suave, produciéndose un poco de dióxido de carbono. Esta fermentación puede transcurrir simultáneamente a la fermentación alcohólica.

Como parte final del proceso se encuentra la post-fermentación, dividida en varias etapas:

Trasiego y clarificación

Transcurridas algunas semanas, tras darse por finalizada la fermentación, el vino se aclara y las levaduras se depositan en el fondo del depósito. Posteriormente, el vino es cuidadosamente separado de las lías (sedimento que en su mayor parte son células de levadura) y trasegado a un depósito limpio. El trasiego implica sacar de la bodega o del depósito el vino que está por encima del nivel de sedimento o lías y transferirlo a bodegas o depósitos limpios.

Almacenamiento a granel y envejecimiento en bodegas

Los vinos pueden ser almacenados y madurados en grandes depósitos, produciéndose cambio de aroma, sabor y/o color dependiendo del tipo de depósito y del tiempo de maduración.

Clarificación y afinado

La mayoría de los vinos se clarifican ellos mismos durante el almacenamiento, y son trasegados sin las lías durante la maduración antes del embotellado. Sin embargo antes de embotellar, se emplean varios tratamientos para asegurar la estabilidad del vino.

Estabilización por frío

Una cierta cantidad de sales de tartrato son insolubles durante el almacenamiento y, sin ningún tratamiento, conllevan a la aparición de cristales de tartrato en los vinos; algunas veces en el corcho o en el fondo de la botella. Para prevenir cualquier depósito de compuestos insolubles durante el tiempo que los vinos pueden estar en la botella, se hace enfriar el vino hasta acercarse a su punto de congelación, lo que provoca la precipitación de tartratos y otros posibles compuestos presentes, los cuales pueden ser eliminados por filtración o centrifugación.

Embotellado y etiquetado

Poco antes de embotellar, habitualmente, se añade una pequeña cantidad de dióxido de azufre para proteger el vino de oxígeno, lo que previene el pardeamiento y reduce el riesgo de contaminación por microorganismos.

La botella de vino se tapa, habitualmente con corcho (proporciona un cierre hermético).

Envejecimiento en botella

Otro tipo de maduración que puede utilizarse es el envejecimiento en botella (deliberado o no) y los cambios químicos que se producen difieren de los que se producen durante la maduración en bodega. (29)

La elaboración del vino difiere significativamente en función del color. En los puntos del 1.1.5.1. al 1.1.5.3 se describen las diferencias en el proceso para cada variedad.

1.1.5.1. ESPECIFICACIONES VINO TINTO

En cuanto a los vinos tintos, en la etapa inmediatamente posterior al estrujado se encuentran ya las primeras diferencias. Los hollejos y las pepitas no se eliminan en este caso y la maceración (es decir, el contacto entre las pieles y el zumo de las uvas después del estrujado) con los hollejos tiene lugar antes y durante la fermentación. Cuanto más larga es esta maceración, más oscuros y tánicos serán los vinos. Los vinos pueden fermentar en presencia de los hollejos hasta tener un contenido bajo de azúcares, lo que permite que la maceración tenga lugar durante todo el periodo de la fermentación.

En presencia de hollejos es preferible fermentar a 24°C-25°C durante dos semanas.

El vino tinto debe conservarse con concentraciones bajas de dióxido de azufre y a una temperatura de almacenamiento relativamente baja. (29)

1.1.5.2. ESPECIFICACIONES VINO BLANCO

En vinos blancos el aire debe quedar excluido tanto como sea posible durante el proceso de elaboración para impedir el desarrollo del color pardo y evitar perder el aroma frutal de los mismos. Durante todo el proceso es necesario el control de la temperatura.

Los vinos blancos se elaboran normalmente a partir de uvas blancas, pero también pueden usarse uvas tintas con cuidado de no dañar los hollejos, ya que esto conduciría a una coloración roja de los mostos.

La característica especial de la elaboración de vinos blancos es la eliminación de hollejos, semillas, y raspones, normalmente inmediatamente después del

estrujado y escurrido de las uvas. Parte del mosto se obtiene por estrujado sin prensado de las uvas, seguido por un prensado. La fermentación se realiza sobre el mosto de uvas sin hollejos.

Muy frecuentemente los vinos blancos se elaboran con un mínimo de maceración y las uvas estrujadas se prensan inmediatamente. Este prensado se hará de manera muy suave para no provocar la extracción de los hollejos y así obtener vinos frescos y frutales.

El mosto se suele clarificar antes de la fermentación por “sedimentación en frío”. El mosto se mantiene frío (10°C-15°C), normalmente añadiendo ácido sulfuroso para impedir el inicio de la fermentación, y los sólidos suspendidos que caen al fondo del depósito se eliminan por trasiego y/o filtración y/o centrifugación. Normalmente no se eliminan todos los sólidos ya que de ser así podría ocasionar dificultades en la fermentación.

La fermentación se realiza entre 15 y 20°C, aunque pueden emplearse temperaturas inferiores y tiene lugar a lo largo de dos o tres semanas.

La mayoría de los vinos blancos deben ser embotellados y consumidos jóvenes, sin ningún tipo de envejecimiento, por lo que es necesario realizar una clarificación, estabilización y filtración antes de embotellar. (29)

1.1.5.3. ESPECIFICACIONES VINO ROSADO

El vino rosado comparte prácticamente los mismos métodos de elaboración que el vino blanco.

Se eliminan los hollejos y los raspones. Después, el mosto se estruja y se traslada a un depósito en el que se mantiene en contacto con el hollejo durante un periodo que oscila entre las 12 y las 16 horas, con especial cuidado para que no comience la fermentación. Cuando el mosto ha tomado color, se procede al sangrado, consiguiendo así un mosto de aspecto ligeramente coloreado.

Antes de la fermentación se realiza la clarificación siguiendo los mismos procedimientos que en la elaboración del vino blanco.

Posteriormente se inicia el proceso de fermentación, sin que el mosto este en contacto con hollejos y pepitas, que debe realizarse a una temperatura controlada para obtener vinos frescos y afrutados sin que el mosto supere en ningún momento los 20°C. (28)

1.1.6. VENTAJAS E INCONVENIENTES DE SU CONSUMO

Los efectos positivos del vino sobre la salud están demostrados, pero solo y exclusivamente a dosis moderadas. A dosis elevadas tiene efectos nefastos sobre el organismo.

Los expertos aconsejan el consumo de vino tinto de buena calidad pero en dosis moderadas. Para una persona sana, no sometida a ningún tipo de medicación, recomiendan unos dos o tres vasos de vino diarios (10-30 g/día) ingeridos durante la comida y siempre eligiendo vinos con denominación de origen que ofrezcan calidad. (14)

A dosis moderadas

- Estimula el apetito y aumenta la secreción gástrica.
- Mejora el flujo sanguíneo y la vasodilatación impidiendo la oxidación del colesterol "malo" (LDL).
- Aumenta el colesterol "bueno" (HDL) en la sangre e impide el depósito de grasa en las paredes de las arterias, disminuyendo el riesgo de infarto cardíaco y cerebral.
- El consumo moderado de vino disminuye el riesgo de mortalidad por cardiopatías a la mitad.
- El alcohol por sí mismo dificulta la agregación de las plaquetas y macrófagos, impidiendo la coagulación y reduciendo el riesgo de embolias y trombosis.
- Previene la pérdida de masa ósea en mujeres postmenopáusicas.
- Posee una acción antioxidante previniendo la aparición de ciertos tipos de cánceres y ralentizando la aparición de Alzheimer.

El responsable de esta potente acción antioxidante es el resveratrol (fitoalexina presente en las uvas y en productos derivados como vino), cuya capacidad antioxidante supera incluso a las de la vitamina E que es el antioxidante natural más eficaz que se conoce. Diversos estudios científicos han confirmado la acción anticancerígena desarrollada por el resveratrol.

A dosis elevadas

- Disminuye las facultades físicas y mentales.
- Produce sobrepeso y obesidad.
- Destruye el hígado, puede ocasionar cirrosis hepática.
- Aumenta el riesgo de desarrollar úlceras y gastritis.
- Debilita el corazón, da lugar a cardiopatías.
- Provoca hipertensión.
- Daña el cerebro ocasionando daños irreversibles.

- Aumenta el riesgo de padecer cáncer.
- Altera gravemente la calidad de vida.
- Es un factor de riesgo de mortalidad.

Es conveniente destacar cuatro factores beneficiosos consecuentes a la ingesta de vino:

“Agilidad mental”

Para el cerebro, parece que es mucho mejor beber vino que abstenerse de hacerlo. Así lo prueban estudios científicos recientes que muestran cómo el consumo leve o moderado de vino mejora la función cognitiva y la agilidad mental. Ingerirlo en pequeñas dosis puede ayudar en la prevención de la demencia, esto posiblemente se debe a que los antioxidantes del vino reducen la inflamación, impiden que las arterias se endurezcan (aterosclerosis) e inhiben la coagulación, mejorando así el riego sanguíneo de nuestro órgano pensante.

“Antigrasa”

El consumo de vino activa al gen SIRT1, que impide la formación de nuevas células de grasa y ayuda a movilizar las ya existentes. La dosis diaria óptima serían 40 gramos de alcohol al día.

“Ejercicio embotellado”

El resveratrol de la uva contrarresta eficazmente los efectos negativos de una vida sedentaria sobre el organismo.

“Dientes sanos”

Tanto el vino blanco como el vino tinto evitan la caída de los dientes, frena el crecimiento de los estreptococos de la boca, bacterias vinculadas a las caries, a la gingivitis y al dolor de garganta. (15)

Se ha considerado interesante mencionar que diversos estudios pusieron de manifiesto la llamada "paradoja francesa", donde se apreciaba la menor mortalidad por enfermedad cardiovascular entre la población francesa que tomaba habitualmente vino en cantidades moderadas aunque fueran consumidores de gran cantidad de grasas saturadas perjudiciales para la salud cardiovascular. (37)

1.1.7.DIFERENCIAS ENTRE DISTINTAS DENOMINACIONES DE ORIGEN

Tal y como se ha ido explicando a lo largo de esta introducción las condiciones del terreno, el clima, y el tipo de uva tienen una gran influencia en la composición final del vino.

En la figura 7 puede observarse la distribución geográfica de los vinos que se han analizado en este proyecto.

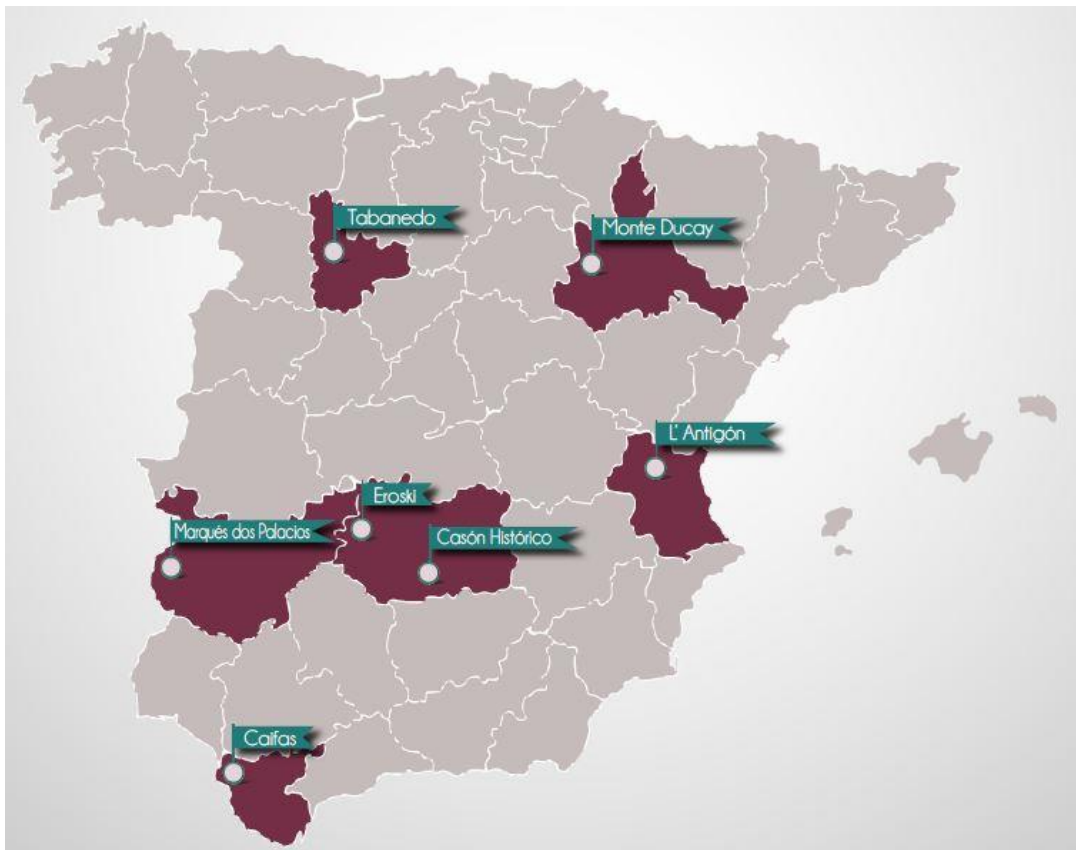


Figura 7. Distribución geográfica de los vinos analizados.

¿Cómo puede influir en el vino su cultivo en diferentes terrenos, o lo que es lo mismo, su distinta denominación de origen?

España produce vinos de estilos marcadamente diferentes, consecuencia de las diferencias climáticas y del terreno, además de, por supuesto, el tipo de uva utilizado para su producción.

Los vinos de corte más mediterráneo pueden considerarse más cálidos y potentes, mientras que los vinos de carácter más atlántico serían más frescos.

La mayoría de las denominaciones de origen en España son áreas productoras de gran tamaño que incluyen todo tipo de terrenos y condiciones climáticas. Las variedades plantadas en cada región son a menudo numerosas, encontrándose tanto variedades autóctonas como variedades internacionales.

Como ejemplo de las múltiples regiones productoras de vino, y a título meramente informativo, se enumeran a continuación las citadas regiones (ordenadas alfabéticamente):

Abona, Abella, Alicante, Almansa, Ampurdán, Arlanza, Arribes, Bierzo, Binissalem, Bullas, Calatayud, Campo de Borja, Cariñena, Cataluña, Cava, Cigales, Conca de Barberá, Condado de Huelva, Costers del Segre, Dehesa del Carrizal, Dominio de Valdepusa, El Hierro, Finca Elez, Gran Canaria, Guijoso, Jerez, Jumilla, La Gomera, La Mancha, La Palma, Lanzarote, Málaga, Manchuela, Manzanilla de Sanlúcar de Barrameda, Méntrida, Mondéjar, Monterrei, Montilla-Moriles, Montserrat, Navarra, Penedés, Pla de Bages, Pla i Levant, Priorato (DOCa*), Rías Baixas, Ribeira Sacra, Ribeiro, Ribera del Duero, Ribera del Guadiana, Ribera del Júcar, Rioja (DOCa), Rueda, Señorío de Arínzano, Sierra de Málaga, Somontano, Tacoronte-Acentejo, Tarragona, Terra Alta, Tierra de León, Tierra del Vino de Zamora, Toro, Txakoli de Álava, Txacoli de Bizcaia, Txacoli de Getaria, Uclés, Utiel-Requena, Valdeorras, Valdepeñas, Valencia, Valle de Güímar, Valle de la Orotava, Vinos de Madrid, Ycoden-Daute-Isora, Yecla.

(*Denominación de Origen Calificada (D.O.Ca.))

Concretamente, los **vinos blancos** alcanzan algunas de sus mejores expresiones en la denominación gallega Rías Baixas, donde la variedad *Albariño* proporciona vinos frescos y que con bajos rendimientos ofrecen una buena expresión mineral. Las vecinas denominaciones de Valdeorras o Ribeiro están dando vinos cada vez más interesantes.

Rueda, en Castilla y León, ha sido enseña de vinos sencillos y fáciles de beber, pero ofrece también excelentes ejemplos de vinos de alta calidad elaborados con la variedad *Verdejo*. Algo similar podemos decir de Penedés, en Cataluña. En Navarra reina la uva chardonnay, que gracias a un clima más fresco alcanza niveles de calidad notable. Encontraremos vinos blancos muy interesantes en prácticamente cada región española, y en algunos casos podemos hablar de vinos que se codean con los mejores vinos blancos del mundo, como en algunos ejemplos de vinos blancos reserva y gran reserva elaborados en La Rioja.

Los **vinos tintos** son los vinos que representan la mayor parte de la producción y del consumo. Desde la fama internacional de los *Rioja*, la reputación de los *Ribera del Duero*, y el empuje de los excelentes, escasos y costosos *Priorato*, hasta la pujanza de nuevos y frescos tintos como los de la Ribeira Sacra. En Bierzo se encuentran algunos de los vinos más frutales y aromáticos. Entre los vinos mediterráneos, cálidos y potentes, regiones como Jumilla, Alicante o Utiel-Requena son unas buenas referencias, aunque no las únicas.

Entre los **vinos rosados**, Navarra cuenta con una buena tradición en la elaboración de vinos frescos de garnacha, pero muchas otras regiones españolas, desde Cigales hasta La Mancha, producen vinos muy competentes. (16)

1.2. FLÚOR

1.2.1. DESCUBRIMIENTO

Ampère puso de manifiesto en 1810 la analogía existente entre el ácido clorhídrico y el gas que se desprendía de una mezcla de espato de flúor y ácido sulfúrico, admitiendo la existencia de un elemento análogo al cloro y, además, que el ácido obtenido de la fluorita era un compuesto hidrogenado.

Al supuesto elemento se le denominó flúor. Los ensayos con objeto de aislar este nuevo elemento fueron numerosos –con resultados negativos- debido a la gran afinidad que el flúor muestra para los demás elementos. No fue hasta 1886 cuando Moissan consiguió aislarlo. (17)

1.2.2. FUENTES NATURALES. YACIMIENTOS DE FLÚOR.

Se estima que se halla en un 0,065% en la corteza terrestre. Es casi tan abundante como el carbono, el nitrógeno o el cloro, mucho más que el cobre o el plomo, aunque mucho menos que el hierro, aluminio o el magnesio.

Los compuestos cuyas moléculas contienen átomos de flúor están ampliamente distribuidos en la naturaleza y son, principalmente, la fluorita CaF_2 , criolita $\text{Na}_3[\text{AlF}_6]$ y fluorapatito $\text{CaF}(\text{PO}_4)_3$. Muchos otros minerales contienen cantidades pequeñas del elemento, y se encuentra tanto en rocas ígneas como en rocas sedimentarias.

El flúor se presenta únicamente combinado, generalmente al estado de fluorita o espato de flúor, cristalizado en cubos y octaedros. Se halla abundantemente distribuido en la naturaleza aunque en cantidades escasas, asociado al aluminio y sílice se encuentra en pequeña proporción en el topacio. Existen indicios de flúor en el agua de mar y en la de muchos manantiales y ríos.

Se ha comprobado también la presencia de indicios de flúor en los tallos silíceos de hierbas y plantas equisetáceas. Así como que tiene gran importancia en la economía animal, pues ciertas plantas no se desarrollan en ausencia de flúor.

Los huesos, tanto los recientes como los fósiles, contienen también flúor. (17)

1.2.3. AISLAMIENTO DEL FLÚOR

Davy (químico británico 1778-1829) dedujo de sus experiencias sobre los compuestos que éste era un elemento extremadamente activo. (17)

1.2.4. DESCRIPCIÓN Y PROPIEDADES QUÍMICAS

El flúor es un gas de olor penetrante y desagradable parecido al del ácido hipocloroso. Una columna de dicho gas, encerrada en un tubo de platino de 50 cm de largo con ventanas de fluorina incoloras muestra un color amarillo verdoso bien marcado. Su dispersión es anormal, siendo más baja hacia la región azul que hacia la roja del espectro.

La densidad del flúor ha sido determinada con gas purificado por su peso sobre platino caliente y enfriado a -50°C con cloruro de metilo, pasando a continuación sobre fluoruro sódico anhidro para retener los últimos indicios de gas fluorhídrico. El volumen se determinó analíticamente después de reaccionar con el agua. La primera determinación se hizo en recipientes de platino dando el valor de 1,265 (referido al aire), obteniendo luego como nuevo valor 1,310 (más cercano al valor teórico 1,319). Parece excluida la posibilidad de que el gas contenga una cantidad apreciable de átomos libres.

El flúor líquido (licuado por Moissan y Dewar) es de color amarillento y muy movable. Sumergido en hidrógeno líquido se solidifica dando un cuerpo blanco que funde a -223°C . La temperatura crítica del flúor es aproximadamente 120°C , la presión crítica 40 atm y su punto de ebullición -187°C . La densidad del flúor líquido es $1,14\text{ g}\cdot\text{ml}^{-1}$ y su masa atómica es de $18,9984\text{ g}\cdot\text{mol}^{-1}$. Su refracción específica es mayor que la de aire líquido y el oxígeno. No presenta propiedades magnéticas, ni bandos de absorción. Se combina con el hidrógeno aún en la oscuridad.

Ataca el vidrio y con mucha violencia todos los compuestos orgánicos. Todos los metales son atacados con diferente energía, dando lugar a la formación de fluoruros.

El flúor es el elemento más electronegativo, y por un margen importante, el elemento más energético de la familia de los halógenos. Posee propiedades muy características, como ocurre frecuentemente con los primeros elementos de los grupos de la tabla periódica. El flúor es un elemento muy tóxico y reactivo.

En disolución acuosa, el flúor suele aparecer en forma del ion fluoruro (F^{-}), generalmente formando fluoruros pero también existen fluorocomplejos como el $[\text{FeF}_4]^{-}$ o el H_2F^{+} . El ión fluoruro proviene de las sales del ácido fluorhídrico (HF). Cuando el F^{-} está unido a elementos alcalinos, son solubles e higroscópicos, mientras que cuando está unido a elementos alcalinotérreos, son poco solubles.

(17)

Nombre	Flúor
Número atómico	9
Valencia	-1
Estado de oxidación	-1
Electronegatividad	4
Configuración electrónica	$1s^2 2s^2 2p^5$
Primer potencial de ionización	17,54
Masa atómica ($\text{g}\cdot\text{mol}^{-1}$)	18,9984
Densidad ($\text{g}\cdot\text{ml}^{-1}$)	1,14
Punto de ebullición ($^{\circ}\text{C}$)	-187
Punto de fusión ($^{\circ}\text{C}$)	-219,6
Descubridor	Moissan (1886)

Tabla 4. Propiedades químicas del flúor.

1.2.5. INFLUENCIAS DEL IÓN FLUORURO EN LA SALUD HUMANA

El flúor presente en los seres vivos se encuentra en forma iónica como fluoruro, normalmente la cantidad en el cuerpo humano oscila alrededor de 2,5 gramos, mientras que el nivel en sangre está entre 0,10 y 0,45 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

El flúor ingerido en la dieta se absorbe rápidamente a través del tracto gastrointestinal, pasa a la sangre y se distribuye por difusión simple a órganos y tejidos. El parámetro que regula la absorción a través del estómago es el pH. El ambiente ácido del estómago convierte el flúor iónico en ácido fluorhídrico, que atraviesa las barreras fisiológicas. La absorción también viene determinada por la composición de las sustancias ingeridas. Compuestos como el fluoruro de sodio son absorbidos completamente, mientras que en aquellos de menos solubilidad, como el fluoruro de magnesio, aluminio o calcio, la absorción será menor.

Los tejidos que presentan una mayor distribución son el óseo y el dental, y en menor medida los tejidos blandos. (19)

El flúor puede catalogarse como un elemento posiblemente “esencial” desde el punto de vista de la nutrición humana, ya que es un oligoelemento imprescindible para la formación de huesos y dientes. Otros aspectos destacables son que hace más resistente el organismo a la descalcificación, interfiere en la actividad metabólica de la placa dental y, según la OMS, Organización Mundial de la Salud, es el único agente eficaz para la prevención de las caries.

La población general puede estar expuesta a los fluoruros en el aire, alimentos, agua potable y suelo contaminados. Las personas que viven en comunidades con agua fluorada o agua con niveles de fluoruro normalmente altos pueden estar expuestas

a niveles más altos de estas sustancias. Al igual que las que trabajan o viven cerca de industrias donde se usan sustancias que contienen fluoruro. (18)

Las contraindicaciones del consumo de fluoruro, si se sobrepasan los límites óptimos, se fundamentan en la aparición de fluorosis en los dientes y huesos (caries y osteoporosis), sobretodo en el caso de los niños, así como daños en los sistemas renal, nervioso y muscular. Además una presencia excesiva de fluoruro en el organismo podría llevar al acomplejamiento de ciertos metales en enzimas y el consiguiente deterioro en el funcionamiento de las mismas.

Sin embargo, si la exposición no es suficientemente alta, estos huesos pueden ser más frágiles y quebradizos y el riesgo de sufrir fracturas puede ser mayor.

En la siguiente tabla se exponen los valores de la ingesta adecuada recomendada de flúor según el Departamento de Nutrición del *"Institute of Medicine of National Academics"* tanto para infantes, niños y adultos. (38)

Edad	Dosis (mg/día)
Bebés de 0 a 6 meses	0,01
Bebés de 7 a 12 meses	0,5
Infantes de 1 a 3 años	0,7
Infantes de 4 a 8 años	1
Infantes de 9 a 13 años	2
Adultos (hombres) a partir de 14 años	4
Adultos (mujeres) a partir de 14 años	3

Tabla 5. Dosis adecuada de flúor en función de la edad.

1.2.5.1. BENEFICIOS

Las indicaciones terapéuticas del flúor se centran en la prevención de caries dental, y, en menor medida en el tratamiento de algunas afecciones óseas como la osteoporosis.

En referencia a las acciones sobre la estructura dental se puede asegurar que los beneficios del flúor procedentes de la ingesta no están limitados a los niños en edad de formación dentaria. El flúor actúa de forma tópica sobre los dientes, mediante la utilización de dentífricos, y de forma sistemática mediante el agua potable y algunos alimentos principalmente. Los componentes más importantes de esmalte dental son el calcio y los fosfatos, que se disponen en cristales de estructura muy similar a la hidroxiapatita. La superficie de estos cristales es extensa y químicamente reactiva, produciéndose en ella numerosas situaciones y absorciones. Una de las sustituciones más significativas es la de los grupos hidroxilo por flúor, dando

lugar a la formación de fluorapatita y fluorhidroxiapatita, que son mucho más estables, menos solubles en ácido y con una mejor estructura cristalina que la hidroxiapatita. Las caries se producen por efecto de los ácidos orgánicos resultantes de la degradación de carbohidratos por parte de las bacterias de la placa dental. Estos ácidos hacen disminuir fácilmente el pH del medio por debajo de 5,5, nivel crítico a partir del cual se diluye la hidroxiapatita. En cambio, la fluorapatita se disuelve hasta un pH de 4,5 al que las bacterias cariogénicas llegan más difícilmente. A su vez, el flúor disminuye el metabolismo bacteriano por su actividad antiglucolítica y tiene efectos remineralizadores en la detención de caries de esmalte incipientes.

Si se trata de las acciones terapéuticas sobre la osteoporosis, el flúor puede ser la alternativa válida en el tratamiento de algunas formas de osteoporosis establecida. A causa de la osteoporosis se produce una debilidad estructural del hueso, es por ello que la aportación de fluoruro sódico puede ser beneficiosa en el tratamiento de esta enfermedad. (19)

Estas son algunas de las funciones principales que el flúor realiza en el organismo (20):

- Fortalecimiento y endurecimiento de huesos.
- Evita la caries dental y el crecimiento de las bacterias.
- Junto al calcio y la vitamina D, ayuda a tratar la Osteoporosis.

1.2.5.2. INCONVENIENTES

Los inconvenientes vienen ligados a una ingesta de flúor por debajo o por encima de la óptima. Esta deficiencia en el aporte del flúor al organismo puede darse por diversas circunstancias, encontrándose entre las más importantes:

- Poco consumo de agua.
- Poca o ninguna higiene bucal.
- Consumo excesivo de azúcar y alimentos refinados.
- Algunos medicamentos ricos en hidróxido de aluminio o suplementos con cantidades muy altas de calcio, pueden disminuir la absorción de flúor.

Si no se alcanzan los parámetros citados en la tabla 5 puede provocar:

- Caries dentales.
- Debilidad ósea.

- Aumento anormal de la densidad ósea (osteosclerosis).
- Calcificaciones en ligamentos y tendones.
- Exostosis (formación ósea anormal que sobresale de la superficie del hueso).
- Entumecimiento y dolor en las articulaciones.
- Inmovilidad.
- Hipercalcificación de vértebras, dando complicaciones neurológicas por compresión de nervios (médula espinal).

Por otro lado el exceso de flúor es muy tóxico y puede provocar la fluorosis que produce un efecto opuesto al buscado, ya que debilita el esmalte (provocando más caries) y debilita los huesos (más descalcificación y osteoporosis). El exceso de flúor o fluorosis es irreversible y produce trastornos en el cerebro (debilita las facultades mentales y provoca un efecto mental sedante continuo). Un exceso de flúor puede decolorar o manchar los dientes para siempre. (20)

El flúor y el fluoruro de hidrógeno producen severa irritación de la piel, los ojos y las vías respiratorias.

En altos niveles, como podría ocurrir en un accidente industrial, el fluoruro de hidrógeno también puede dañar el corazón. (7)

1.2.5.3. DOSIS MÁXIMA TOLERABLE

El “*Institute of Medicine of National Academics*” ha establecido la ingesta máxima tolerable de flúor para individuos sanos: (38)

Edad	Dosis (mg/día)
Bebés de 0 a 6 meses	0,7
Bebés de 7 a 12 meses	0,9
Infantes de 1 a 3 años	1,3
Infantes de 4 a 8 años	2,2
Infantes de 9 a 13 años	10
Adultos (hombres) a partir de 14 años	10
Adultos (mujeres) a partir de 14 años	10

Tabla 6. Dosis máxima tolerable en función de la edad.

1.2.6. INFLUENCIAS AMBIENTALES DEL IÓN FLUORURO

El flúor no puede ser destruido en el ambiente, solamente puede cambiar de forma, y éste forma sales con minerales en el suelo.

El gas fluoruro de hidrógeno será absorbido por la lluvia, las nubes y la niebla y formará ácido fluorhídrico, que caerá a la tierra. Los fluoruros liberados al aire por

volcanes y la industria son transportados por el viento y la lluvia a aguas, suelo y fuentes de alimentos cercanas.

En el agua y en el suelo los fluoruros se adherirán fuertemente al sedimento o a partículas en el suelo.

Los fluoruros se acumulan en plantas y en animales. En animales, el fluoruro se acumula principalmente en los huesos o en el caparazón, más bien que en tejidos blandos. (18)

1.2.7. INFLUENCIA DEL IÓN FLUORURO EN EL VINO

Siempre y cuando los vinos presenten niveles inferiores al valor máximo permitido ($1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$) no presentan ningún tipo de riesgo para el consumidor, ni influencia en el proceso de elaboración (33).

Las concentraciones de fluoruro cercanas a $3 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ representan problemas potenciales en la fermentación y después de ella. La sensibilidad de las levaduras del vino a dicha concentración es variable. La utilización de una cepa sensible puede dar lugar a fermentaciones bloqueadas o prolongadas. Además, el fluoruro inhibe irreversiblemente la ureasa ácida, enzima utilizada para hidrolizar la urea residual tras acabar la fermentación alcohólica. La urea es un precursor importante del carbomato de etilo en el vino. Concentraciones de $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de fluoruro inactivan $10 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$ de la enzima (32).

¿Por qué el vino contiene flúor?

La presencia de fluoruros en el vino puede proceder fundamentalmente del suelo de cultivo y del agua, si bien cabe la posibilidad de otras procedencias como pueden ser los tratamientos químicos.

El vino contiene fluoruros debido a los suelos donde se cultiva la uva. Los fluoruros, al igual que todas las sales de este tipo, deben su concentración en el vino a la concentración en esta sal que tiene el suelo en el que se crió la uva.

1.2.7.1. FLUORUROS EN LOS SUELOS DE CULTIVO

Los fluoruros se liberan en el medio ambiente de manera natural a través de la meteorización y disolución de minerales, las emisiones de volcanes y los aerosoles marinos. También se liberan a través de la combustión del carbón y las aguas industriales y los desechos de diversos procesos industriales, en particular la fabricación de acero, la producción primaria de aluminio, de cobre y de níquel, la elaboración de minerales de fosfato, la producción y uso de fertilizantes fosfatados, la fabricación de vidrio, ladrillos y cerámica y la

producción de cola y adhesivos. La utilización de plaguicidas que contienen fluoruros, así como la fluoración del abastecimiento de agua potable contribuye a la emisión de fluoruros que posteriormente llega a depositarse en los suelos.

Los fluoruros forman parte de la mayoría de los tipos de suelos, con concentraciones totales de entre 20 y 1000 $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en zonas sin depósitos naturales de fosfatos o fluoruros y de hasta varios miles de $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ en suelos minerales con depósitos de fluoruros. Los fluoruros gaseosos y particulados suspendidos en el aire tienden a acumularse en la capa superficial del suelo, pero pueden desplazarse por toda la rizosfera, incluso en suelos calcáreos. La retención de fluoruros en el suelo depende fundamentalmente del contenido de arcilla y carbono orgánico, así como del pH del suelo. Los fluoruros del suelo están asociados fundamentalmente con su fracción coloidal o arcillosa. En todos los tipos de suelos, los fluoruros solubles son los biológicamente importantes para las plantas y los animales. (6)

1.2.7.2. FLURORUROS EN EL AGUA

Todas las aguas contienen flúor en concentraciones variables debido a la presencia universal del flúor en la corteza terrestre. El agua de mar contiene cantidades de flúor entre 0,8 y 1,4 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Las aguas dulces presentan contenidos desde 0 a 12 $\text{mg}\cdot\text{l}^{-1}$ generalmente en forma de fluoruros alcalinos. Las aguas de mayores contenidos corresponden a recursos hídricos localizados en zonas montañosas o en áreas con depósitos geológicos de origen marino, como en el Sudeste Asiático y el Noroeste de África.

El flúor puede llegar al agua a partir del polvo, la incineración del carbón, las emanaciones volcánicas, etc. Sin embargo, la proporción de flúor que ingresa en los recursos hídricos procedente del mar o la contaminación atmosférica es extremadamente pequeña en comparación con la procedente de la lixiviación de las rocas y suelos.

La fluoración de las aguas de suministro a la población con el fin de prevenir la caries dental constituye una nueva fuente de flúor a tener en cuenta en aquellas comunidades donde esta práctica está instaurada. (21)

1.2.7.3. DOSIS MÁXIMA DE IÓN FLUORURO EN EL VINO

Debido a esa influencia del fluoruro en la salud humana, su contenido en el mosto y en el vino ha recibido cierta atención en las regulaciones internacionales.

La máxima concentración de flúor permitida por la OIV en 1994 en los países miembros es de $1 \text{ mg}\cdot\text{l}^{-1}$. Excepcionalmente, la UE permite a los países miembros la importación de vinos de EE.UU. con $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ de fluoruro, concentración que representa también la máxima cantidad permitida en el agua de bebida en EE.UU. (32)

Actualmente la concentración de flúor permitida por la OIV sigue siendo de $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. Excepto para vinos provenientes de viñedos con tratamientos especiales, siempre conformes con la ley, en los que se ha usado criolita, en ese caso el nivel de fluoruro no debe superar los $3 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$. (1)

2. TÉCNICAS DE ANÁLISIS

Existen diferentes técnicas analíticas para la determinación de ión fluoruro. La utilización de unas u otras dependerá de diferentes factores, normalmente -aunque no siempre- de las matrices donde se encuentran los fluoruros (biológicas, inorgánicas, medioambientales...), así como de la precisión y sensibilidad requeridas en la determinación.

Sólo se citarán algunas de ellas a modo de ejemplo. Así, en huesos y dientes, el fluoruro se determina por electrodos selectivos de iones -ESI- disolviendo la muestra en ácido perclórico y añadiendo, en el caso de los huesos, ácido 1,2-ciclohexilenodinitroacético. En los fluidos biológicos y extractos de tejidos, también se determinan los fluoruros por ESI, absorbiendo con fosfato cálcico, centrifugando y midiendo la diferencia de potencial. El ión fluoruro también se puede determinar en fluidos biológicos por Cromatografía de gases (GC), añadiendo trimetildorsilano -TMCS-, centrifugando, inyectando tolueno y analizando por medición con trimetilfluorosilano (TMFS) del pico más alto.

Para la determinación de la concentración de fluoruros en muestras medioambientales, además de por ESI se puede utilizar la cromatografía iónica (IC) con detección por conductividad (la muestra a uno o dos litros por minuto, usando una muestra con una membrana de celulosa para recoger las partículas de fluoruros. Se extrae el fluoruro de hidrógeno y los fluoruros solubles con agua, los fluoruros insolubles se extraen con NaOH para su fusión) (26). Por su parte, se puede utilizar el electrodo selectivo con dos métodos distintos, en el primero de ellos se analiza los fluoruros en flujo continuo a partir de aire conseguido del ambiente usando un tubo de teflón. En el segundo, se procede de igual forma que en la IC pero extrayendo el fluoruro de hidrógeno y los fluoruros solubles con 50 ml de TISAB:agua, 1:1.

Para el análisis de fluoruros en el agua hay gran variedad de métodos colorimétricos. En uno de ellos se diluye la muestra y se le añade cloruro de bario con un complejo que contiene zirconio y xilenol hasta color naranja. En otro de ellos, el laboratorio de vigilancia del medio ambiente de Cincinnati (Ohio) propone añadir el reactivo SPADNS (sodio 2-(parasulfofenilazo)-1,8-dihidroxi-3,6-naftaleno disulfonato) a la muestra destilada y medir la pérdida de color resultante de la reacción a 570 nm (35). También es posible utilizar la cromatografía de gases (previa extracción con TMCS y posterior análisis cromatográfico) para la determinación de fluoruros en esta matriz, al igual que el ESI utilizando TISAB como proveedor de iones y regulador del pH. En otro método publicado, se hace reaccionar el flúor presente en la muestra, previamente acidificada con nitrato de torio, para formar un complejo que se colorea con el indicador rojo de alizarina; posteriormente la determinación se realiza por comparación del color

obtenido en la muestra frente a un estándar de flúor de concentración conocida. Esta técnica semicuantitativa requiere que la cantidad adicionada de nitrato de torio sea exactamente la misma tanto en la muestra como en el estándar y que la comparación del color se realice en el punto final de la reacción. Cuando se aplica este método en alimentos, estos deben ser llevados previamente a cenizas con alguna sal fundente, tratadas con ácido perclórico y luego destiladas. (34)

Los fluoruros de las aguas residuales se pueden analizar por cromatografía de exclusión molecular y por ESI en el caso de fluoruros en lluvia (la muestra se diluye con TISAB y se analiza utilizando un sistema de inyección del flujo -FIA-).

En productos alimentarios, los fluoruros pueden analizarse por análisis de activación de protones (hidrogenación de la muestra y posterior hidrólisis ácida en un sistema cerrado). En el caso del cacao, el té y el tabaco, se ha utilizado el análisis por Calorimetría (descomposición de la muestra a 700-1000°C, en corriente de oxígeno húmedo o aire, recogida del fluoruro de hidrógeno y posterior reacción para formar un complejo de cerio (III)).

En peras, guisantes o leche se ha utilizado el ESI, también en diferentes vegetales y plantas (extracción de la muestra, fusión con NaOH, disolución en una disolución reguladora del pH y análisis).

En resumen y a la vista de lo comentado, parece claro que, en general, la utilización de la técnica del electrodo selectivo es relativamente habitual para el análisis de fluoruros en diversas matrices. Si bien es cierto que no ofrece la sensibilidad de la cromatografía de gases, su facilidad de uso, accesibilidad, coste, precisión y rapidez la hacen adecuada para una buena parte de los análisis de fluoruros requeridos en la actualidad (aquellos en los cuales la obtención de máxima sensibilidad no es el requerimiento principal del análisis) (7)(8)

Además de los ya comentados para matrices específicas, decir que es posible determinar concentración de fluoruros mediante cromatografía líquida de alta eficacia (HPLC) con detección ultravioleta y por espectrometría de emisión de plasma con espectrometría de masas (ICP-MS). Ambos son capaces de determinar fluoruro a nivel de trazas y simultáneamente con otros aniones o cationes.

3. ELECTRODO SELECTIVO DE IONES FLUORURO

Tal y como se ha explicado en el punto 2.1, el electrodo selectivo de iones es una de las técnicas posibles para el análisis cuantitativo de iones fluoruro. A continuación se realiza una descripción más detallada de la técnica tanto para un proceso general como para el específico de iones fluoruro.

3.1. DESCRIPCIÓN GENERAL

Los electrodos selectivos de iones responden selectivamente a un ión. No implican procesos redox. La característica clave de un electrodo selectivo de iones ideal es una membrana delgada que idealmente es capaz de unirse solo al ión que se pretende determinar.

Se considera el electrodo selectivo de iones “basado en un líquido” porque la membrana selectiva de iones es un polímero orgánico hidrófobo impregnado con una disolución orgánica viscosa, que contiene un intercambiador iónico y a veces un ligando que se une selectivamente al catión analito. La diferencia de potencial eléctrico a través de la membrana selectiva de iones se mide por dos electrodos de referencia que pueden ser $\text{Ag}|\text{AgCl}$. Si varía la concentración del ión en la disolución del analito, el voltaje medido entre los dos electrodos de referencia también cambia. Usando una curva de calibrado, el voltaje indica la actividad del ión en la disolución del analito.

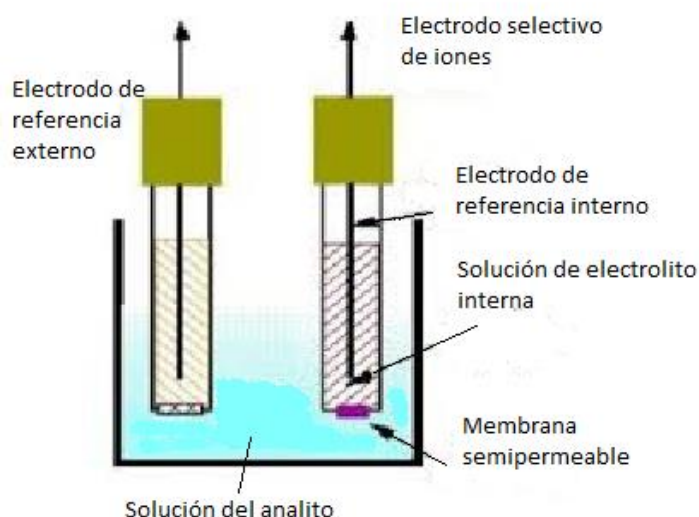


Figura 8. Esquema electrodo selectivo de iones.

Para explicar el funcionamiento del electrodo la clave es el ligando, que es soluble en la membrana y que se une selectivamente al ión analito. El ligando se elige de manera que tenga una gran afinidad con el ión analito y poca afinidad para los restantes iones. En un electrodo ideal, el ligando reacciona únicamente con el ión analito, sin embargo los

electrodos reales siempre tienen cierta afinidad por otros iones, de modo que estos iones interfieren en cierto grado con las medidas del ión a cuantificar. (23)

La técnica cuenta con las siguientes ventajas e inconvenientes (26):

Ventajas

- La respuesta para muchos analitos es lineal en un amplio intervalo de concentraciones, generalmente de cuatro a seis órdenes de magnitud.
- Permite trabajar con muestras turbias o coloreadas, algo que no es posible con muchos métodos ópticos.
- En muchos casos, las medidas son razonablemente rápidas, alcanzándose el equilibrio en poco tiempo, salvo cuando se opere con disoluciones muy diluidas.
- El equipo instrumental es relativamente barato y portátil.
- El método virtualmente es no destructivo, si bien, la muestra debe estar en estado líquido. Asimismo, pueden usarse volúmenes muy pequeños (inferiores a 1 ml).

Inconvenientes

- Están sujetos a gran número de interferencias. Normalmente el electrodo suele responder a varios iones, y son posibles varios tipos de interferencias: acomplejamiento, fuerza iónica, etc.
- Suele ser necesaria una calibración frecuente.
- Generalmente no sirven para el análisis de ultra-trazas. Normalmente son adecuados para concentraciones superiores a 10^{-4} M, si bien, algunos pueden utilizarse hasta concentraciones de 10^{-6} M.

El electrodo selectivo de iones (ESI), para el caso del ión Fluoruro ha sido la técnica utilizada en este proyecto.

3.2. DESCRIPCIÓN ESPECÍFICA PARA IONES FLUORURO

El electrodo selectivo de iones fluoruro está basado en una membrana cristalina de fluoruro de lantano, (LaF_3) impurificado con europio (II). En este caso, la impurificación consiste en añadir pequeñas cantidades de Eu (II).

La solución de relleno interna del electrodo consiste en NaF y NaCl 0,1M.

Su fundamento consiste en que el ión fluoruro en solución está selectivamente absorbido en las dos caras del cristal, por lo que los iones F^- pueden moverse a través del cristal de LaF_3 . Al impurificar el LaF_3 con EuF_2 se producen lagunas reticulares de aniones en el cristal. Esto provoca que un ión F^- de un sitio adyacente a un hueco pueda saltar a éste, dejando a su vez un nuevo hueco en el sitio que ocupaba. Así el fluoruro

puede migrar de un lado a otro de la membrana y establecer una diferencia de potencial entre las caras del cristal, necesaria para el funcionamiento del electrodo.

El diagrama de la célula de una disposición típica experimental es:



Donde:

$\text{Cu}' | \text{Ag, AgCl} | \text{KCl}$ es un electrodo de referencia externo.

$\text{KF, KCl/AgCl, Ag/Cu}$ es una referencia interna en el interior del electrodo selectivo de fluoruro.

De forma que el potencial de dicha célula viene dado por la expresión:

$$E_{\text{celda}} = E_{\text{indicador}} - E_{\text{Referencia}} = k - 0,059 \log [\text{F}^-] - E_{\text{Referencia}}$$

reordenando resulta:

$$E_{\text{celda}} = k' - 0,059 \log [\text{F}^-]$$

Por tanto, puede apreciarse que variando la $[\text{F}^-]$, la representación gráfica de E_{celda} en función de $\log [\text{F}^-]$ es una línea recta de pendiente 59 mV -dependiente de la temperatura-. (35)

La técnica del electrodo selectivo de iones es de una gran facilidad de empleo y permite las medidas directas. Se puede utilizar en una escala de valores que se extiende desde 0,1 a 1000 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$, aunque más usualmente es de 0,1 a 10 $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$. (36)

Uno de los iones que interfieren directamente con las medidas de fluoruro es el ión hidroxilo y esta interferencia empieza a ser importante a valores de pH superiores a 8. A pH menores a 5, los iones hidrógeno también interfieren en las determinaciones de fluoruro total; en este caso se forma fluoruro de hidrógeno no dissociado frente al cual el electrodo no tiene respuesta. (35)

4. MÉTODOS DE ANÁLISIS

Fijada la técnica de análisis, electrodo selectivo de fluoruros, es hora de estudiar las diferentes metodologías de análisis que se han llevado a cabo al objeto de comparar los resultados obtenidos por cada una de ellas y así poder decidir sobre la bondad -o no- de su utilización en este tipo de análisis

A continuación se describe brevemente cada una de ellas: calibración con patrón externo y calibración por adición patrón.

4.1. CALIBRACIÓN CON PATRÓN EXTERNO

En la calibración con patrones externos, la muestra se prepara por separado de los patrones. La propiedad física medida depende de manera conocida y reproducible de la concentración del analito.

Los patrones externos se usan para calibrar instrumentos y procedimientos cuando no hay efectos de interferencias de los componentes de la matriz en la disolución del analito. Se preparan una serie de patrones externos de distintas concentraciones conocidas del analito. Idealmente se utilizan cuatro o más disoluciones en el proceso de calibración.

La calibración se lleva a cabo al obtener la señal de respuesta como función de la concentración conocida del analito.

Al representar gráficamente los datos y ajustarlos a una ecuación matemática se obtiene la curva de calibrado. La constante de proporcionalidad corresponde a la pendiente de calibración.

Seguidamente la señal analítica obtenida para la muestra analizada se sustituye en la ecuación de calibración obteniéndose la concentración del analito.

4.2. CALIBRACIÓN POR ADICIÓN DE PATRÓN

El método por adición de patrón a las muestras se usa cuando es difícil o imposible duplicar la matriz de la muestra.

Se adiciona a la muestra una cantidad o cantidades conocidas de una disolución estándar del analito.

En el método de una sola adición, se toman dos alícuotas de la muestra: una se mide sin adición alguna, y a la otra se mide tras la adición de una cantidad conocida del analito. Ambas respuestas se utilizan para calcular la concentración de analito en la muestra.

El cálculo se realiza a partir de la variación de potencial eléctrico resultante de la adición de una cantidad conocida de patrón -fluoruro en este caso-, utilizando la siguiente expresión: (30)

$$Cx = \Delta c \cdot A \quad (\text{Ecuación 1.})$$

Donde Cx es la concentración de flúor desconocida de la muestra, Δc , la concentración de fluoruro añadido.

$$A = \frac{1}{(10^{\frac{\Delta E}{S}} - 1)}$$

Donde ΔE , corresponde a la variación potencial medio, y S la pendiente del electrodo.

En el método de adiciones múltiples, a varias alícuotas de muestra se le agregan cantidades conocidas de la disolución estándar del analito y se obtiene la curva de calibración de adiciones múltiples.

5. OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es la obtención de valores de concentración de ión fluoruro en distintos vinos de diferentes regiones españolas.

Dicho objetivo se pretende alcanzar en base a la utilización de un electrodo selectivo de fluoruros como técnica de análisis y distintas metodologías analíticas de trabajo. Calibración con patrón externo y calibración por adición de patrón (un sólo patrón y una serie de ellos), serán las metodologías analíticas utilizadas para obtener los valores de concentración de iones fluoruros en los distintos tipos de vinos (tintos, rosados y blancos).

Es objetivo, asimismo, comparar los resultados obtenidos por las distintas metodologías analíticas al objeto de determinar, si es posible, cuál de ellas y en qué condiciones, ofrecen resultados más exactos y precisos. También se observarán los datos bibliográficos de contenido de fluoruros en vino y su similitud y coherencia -o no- con los obtenidos en este proyecto.

6. EXPERIMENTAL

6.1. MATERIALES

En la realización de este proyecto final de carrera se ha utilizado el siguiente material:

- Vasos de precipitados de 100 y 250 ml.
- Matraces aforados de distintos volúmenes (100, 1000 mL).
- Probeta de 50 mL.
- Pipetas volumétricas aforados y graduadas de distintos volúmenes (0,1, 1,0, 10 y 50 mL).
- Pipeta automática de 10 a 100 μ L.
- Pipeteadores y peras de succión.
- Varillas de vidrio.
- Vidrios de reloj.
- Pipetas Pasteur.
- Balanza analítica SARTORIUS TE214S, precisión 0,1 mg, peso máximo 210 g.
- Imán agitador con núcleo magnético, con envoltura de PFTE, politetrafluoretileno. Este material, es un plástico de alta resistencia química, autolubrificante y resistente a altas temperaturas, es antiadherente. El tamaño del agitador, es de 15 mm.

6.2. REACTIVOS

Asimismo, se han utilizado los siguientes reactivos:

- Agua desionizada.
- Disolución reguladora para ajustar la fuerza iónica total (TISAB) preparada tal y como se muestra a continuación: se disolvieron, con agitación, 75 ml de ácido acético glacial (Normapur 100% pureza, Prolabo), 4 g de ácido ciclohexilendinitrilotetraacético (Acros Organics, 98% de pureza) y 58 g de NaCl (Scharlau, 99,8% de pureza) en 500 mL de agua desionizada. Posteriormente esos 500 ml se enfriaron en un baño de hielo y se añadieron, lentamente y con precaución, una disolución de hidróxido de sodio (Labkem, 100% de pureza), 5M, hasta que la disolución resultante alcanzó un pH comprendido en el intervalo 5,0 y 5,5. Finalmente, se diluyó hasta 1000 mL, se homogeneizó y se trasvasó a un frasco de plástico opaco para su posterior uso.

- Disolución patrón madre de $1000 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ de NaF. Cálculo cantidad de fluoruro en la disolución patrón: Datos: Masas moleculares: F ($18,9985 \text{ g/mol}$), Na ($22,9897 \text{ g/mol}$). Si se han pesado $2,2181 \text{ g}$ de NaF:

$$2,2181 \text{ g NaF} * \frac{18,9985 \text{ F} \frac{\text{g}}{\text{mol}}}{41,9882 \text{ NaF} \frac{\text{g}}{\text{mol}}} = 1,0036 \text{ g F}^{-} \text{ en la disolución patrón.}$$

6.3. MUESTRAS

Para la realización de este proyecto se utilizaron 7 muestras de vino, teniendo de cada una tres variedades distintas referentes a su color: tinto, blanco y rosado.

- Casón Histórico
- Marques Dos Palacios
- Tabanedo
- Eroski
- Monte Ducay
- Caifas
- L'antigón

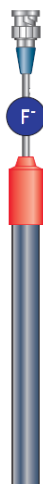
Sumando en total 21 muestras distintas. Las muestras fueron adquiridas en diferentes establecimientos. Los contenedores de estas muestras han sido tanto en envases del tipo Tetra Brik® como botellas de vidrio. A lo largo de la realización del proyecto, fueron almacenadas a temperatura ambiente y en oscuridad.

En la figura 7 se ha mostrado como están repartidos geográficamente en la península ibérica.

6.4. EQUIPOS

Para poder conectar los tres elementos (electrodo selectivo de fluoruros, electrodo de referencia y sonda de temperatura) se ha utilizado un potenciómetro pH-mili voltímetro comercial 3020 JENWAY, cuya señal eléctrica viene expresada en milivoltios y la temperatura en grados centígrados. Posee una entrada de alta impedancia, necesaria debido a la elevada resistencia de la mayoría de los electrodos.

El **electrodo selectivo de fluoruros marca CRISON modelo 96 55**. El electrodo selectivo de fluoruro está diseñado para medir concentraciones y actividades del ion fluoruro. La membrana está ubicada en la parte inferior del electrodo y no precisa el relleno con electrolito interno. Es un electrodo indicador que necesita trabajar siempre junto a uno de referencia. A continuación se detallan las especificaciones del electrodo.



Tipo de electrodo	Indicador
Tipo de membrana	Cristal de LaF_3
Escala de medida	0,02 mg/l – 20 mg/l
Escala lineal de medida	A partir de 0,1 mg/l
Pendiente en zona lineal	$55 \pm 4 \text{ mV} / \text{pF}$ a $20 \pm 5^\circ\text{C}$
Condiciones de trabajo	pH 4 – pH 8, $5^\circ\text{C} - 50^\circ\text{C}$
Electrolito del electrodo de referencia	LiCH_3COO 0,1M
Ajustador fuerza iónica	TISAB
Conector	BNC
Material cuerpo	Plástico

Tabla 7. Especificaciones e imagen del electrodo selectivo fluoruros Crison 96 55.

Es conveniente destacar que en ausencia de iones interferentes, la precisión es mejor que $\pm 0.5 \text{ mV}$, que corresponde al $\pm 2\%$ de la concentración medida. Estas interferencias pueden venir dadas por OH^- y altas concentraciones de acomplejantes de lantano (citratos, fosfatos, bicarbonatos). Las interferencias de Ca^{2+} , Al^{3+} y Fe^{2+} se eliminan con el TISAB. En ausencia de iones interferentes, la precisión es mejor que $\pm 0.5 \text{ mV}$, que corresponde al $\pm 2\%$ de la concentración medida.

Para el buen mantenimiento del electrodo los posibles depósitos formados sobre la membrana se han eliminado sumergiendo el electrodo en agua destilada durante unos minutos, para a continuación acondicionar el electrodo sumergiéndolo en una disolución de fluoruro diluida (10^{-3} M) ausente de TISAB.

El electrodo de F^- se debe almacenar seco y limpio, protegido con su capuchón protector.

El potencial generado por el electrodo selectivo de fluoruros se compara con el potencial generado por un electrodo de referencia. (30)

El utilizado en este proyecto ha sido el **electrodo de referencia Ag/AgCl marca CRISON modelo 52 40**.

Es un electrodo de uso general que produce un potencial constante. El electrolito de referencia no debe alterar la concentración de los iones que se analizan. En la siguiente tabla se enumeran las especificaciones de este electrodo de referencia:



Temperatura de trabajo	$0^\circ\text{C} - 100^\circ\text{C}$
Elemento de referencia	Cristales de Ag/AgCl encapsulados
Diafragma	Cerámico
Electrolito	CRISOLYT
Material del cuerpo	Vidrio

Tabla 8. Especificaciones e imagen del electrodo de referencia.

Entre sus aplicaciones se encuentran las de medir pH, redox y trabajar con los electrodos ion selectivo de F^- y Ca^{2+} .

Este electrodo cuenta también con ciertas limitaciones. El electrolito de referencia debe ser siempre KCl 3M. No es eficaz para soluciones de muy baja conductividad o muy viscosas, muestras con coloides o sólidos en suspensión que pueden obturar el diafragma cerámico fácilmente ni para temperaturas mayores de 80 °C.

La “esperanza de vida” del electrodo de referencia puede ser indefinida siempre que se efectúe el mantenimiento necesario. Para un buen mantenimiento se ha de mantener el nivel de electrolito lo más alto posible y limpia la superficie del diafragma. El conector debe mantenerse protegido de la humedad mediante el tapón protector. (31)

A los electrodos de referencia y selectivo de fluoruros se añade una **sonda de temperatura** que proporciona la temperatura de la disolución que se esté midiendo en ese momento en grados centígrados con una precisión de 0,1°C.

6.5. DESCRIPCIÓN DEL PROCEDIMIENTO UTILIZADO

6.5.1. PREPARACIÓN DE LOS PATRONES

Conviene distinguir entre la preparación de los patrones que se han utilizado para calibración por patrón externo y por patrón interno, así como, la preparación de la disolución patrón de 1000 mg/l de NaF (disolución madre).

Preparación de la disolución madre

Se han disuelto 2,2181 g de NaF en agua desionizada y se han mezclado bien en un vaso de precipitados. Esta mezcla se ha llevado a un matraz aforada de 1000 mL y se ha enrasado con agua desionizada. Tras su agitación se ha trasvasado a un bote de plástico. Esta disolución cuya concentración real corresponde a 1003,6 mg·L⁻¹ de F^- se utilizará en todos los ensayos realizados en este proyecto.

De la disolución madre se hicieron diluciones (100 y 10 mg·L⁻¹) con el fin de que las adiciones con las pipetas fuesen más precisas.

Preparación de los patrones (PATRÓN EXTERNO)

Se prepararon sendos patrones en función de las necesidades estudiadas. En un matraz de 100 ml se añade:

- Una cantidad (específica para cada uno de los patrones) de la disolución madre (1003,6 mg·L⁻¹), sirviéndose de la pipeta que más se ajuste a las necesidades.
- 20 ml de TISAB (*), para ajustar la fuerza iónica y el pH.

- Agua desionizada hasta enrase.

(*) Por las necesidades operativas del procedimiento, se optó por reducir la cantidad óptima de TISAB -bibliográficamente es de un 50%-, de acuerdo a lo estudiado por A. Nicolás. (7)

Esta cantidad específica varía en función de la concentración deseada en cada uno de los patrones. Para hacer el cálculo de cuántos mililitros de la disolución madre diluida deben ser añadidos se ha utilizado la siguiente expresión:

$$C_1 V_1 = C_2 V_2$$

Siendo:

- C_1 (Concentración 1) conocida e igual a $100 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ o $10 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (valores de las diluciones).
- V_1 (Volumen 1) desconocido, pues es precisamente el volumen que se desea calcular para añadirlo a su correspondiente matraz aforado. El resultado se obtiene en mL.
- C_2 (Concentración 2) conocida, correspondiendo al valor de concentración deseado para cada patrón. Expresada en $\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$.
- V_2 (Volumen 2) conocido e igual a 100 mL.

Conviene agitar la mezcla justo antes de proceder a su medida.

Preparación de las adiciones (ADICION DE PATRÓN)

Para las adiciones basta con tomar la cantidad deseada del vaso de precipitados que contiene la dilución correspondiente de la disolución madre y seguidamente añadirla a la muestra de vino para proceder de inmediato a su medida.

6.5.2. PREPARACIÓN DE LAS MUESTRAS (VINOS)

Para la preparación de cada muestra se han trasvasado 80 ml de vino a un matraz aforado de 100 ml y se ha enrasado con TISAB (20 ml aproximadamente, la misma cantidad que se añade en la preparación de los patrones).

6.5.3. MEDIDA DE LAS MUESTRAS

Para la medida de las muestras se trasvasa de cada patrón un volumen aproximado de 70 ml a un vaso de precipitados de 100 ml de capacidad. Antes de trasvasar la muestra el vaso debe ser homogeneizado con objeto de asegurar igual concentración.

En el caso de la muestra de vino es diferente pues se trasvasa en su totalidad a un vaso de precipitados de 250 ml, a fin de agilizar el proceso, ya que una vez medida la muestra, se usará la muestra en el mismo recipiente para proceder a las adiciones de patrón. En este caso, el citado vaso de precipitados estaba seco. A cada vaso de precipitados se ha añadido un núcleo magnético y se ha asignado tanto a cada matraz aforado como a cada vaso de precipitados una etiqueta con su correspondiente concentración o especificación a fin de no confundirlos.

Previo a cada medida ambos electrodos deben ser lavados con agua desionizada y secados por capilaridad con papel absorbente. Antes de realizar las medidas es necesario calibrar el electro con una disolución blanco, cuya composición es 20% TISAB y 80% agua desionizada. Para esto, se sumergen los electrodos y la sonda de temperatura en la disolución y pasados 2 minutos (con agitación) se pulsa el botón "CAL", estableciendo así el 0,000 en la medida del voltaje. Ahora, ya puede procederse a la medida de cada uno de los patrones y muestras.

7. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los resultados obtenidos, por cada una de las 3 metodologías de análisis y para cada una de las 21 muestras de vino, se muestran a continuación en este apartado. Los métodos utilizados han sido los que se han explicado anteriormente, esto es, (i) la calibración por patrones externos, (ii) la calibración por adición de patrón (utilizando dos pendientes diferentes para su cálculo) y (iii) la calibración por adición de una serie de patrones.

Cada muestra de vino se ha analizado tres veces, obteniendo así un total de 12 resultados para una misma muestra de vino. Los datos que se muestran a continuación son el promedio de estas tres repeticiones, salvo en el caso de resultados claramente anómalos que exigieron su eliminación previa a los cálculos.

7.1. ENSAYOS PREVIOS

Con anterioridad a la medida de las muestras se consideró necesario realizar ensayos previos con distintas concentraciones patrón de fluoruros, a fin de conocer el rango de concentraciones óptimas y definir mejor las condiciones de operación.

En relación a la **calibración con patrones externos**, se prepararon una serie de patrones de concentraciones conocidas en un rango de 0,05 a 5 mg·L⁻¹, a la vista de los resultados, se realizó un segundo ensayo esta vez con patrones incluidos en un rango de 0,25 a 1 mg·L⁻¹.

	Concentración (mg·L ⁻¹)	Señal (mV)	T ^a (°C)
Patrón 1	0,05	-43	24,6
Patrón 2	0,1	-55	24,0
Patrón 3	0,5	-92	24,1
Patrón 4	1,0	-110	24,2
Patrón 5	2,0	-128	24,2
Patrón 6	3,0	-138	24,3
Patrón 7	5,0	-150	24,4
Muestra VINO	x	-46	24,6

Tabla 9. Datos ensayos previos I para patrón externo.

	Concentración (mg·L ⁻¹)	Señal (mV)	T ^a (°C)
Patrón 1	0,025	-10	25,8
Patrón 2	0,05	-39	26,0
Patrón 3	0,1	-53	26,1
Patrón 4	0,5	-93	26,2
Patrón 5	1,0	-104	26,2
Muestra VINO	x	-53	26,4

Tabla 10. Datos ensayos previos II para patrón externo.

Referente a la **calibración por adición de una serie de patrones** se probó inicialmente con una adición de $4 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, pero en una segunda experiencia se llevaron a cabo una serie de adiciones de 0,25; 0,75; 1,5; 2,5 y $4,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

	Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Señal (mV)	Tª (°C)
Muestra	0	-53	26,4
1	4	-131	26,5

Tabla 11. Datos obtenidos en los ensayos previos de la calibración por adición de patrón.

	Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Adición acumulada ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Señal (mV)	Tª (°C)
Muestra	0	0	-46	25,2
1	0,25	0,25	-82	24,9
2	0,5	0,75	-105	24,8
3	0,75	1,5	-121	24,7
4	1,0	2,5	-133	24,9
5	1,5	4,0	-144	25,0

Tabla 12. Datos obtenidos en los ensayos previos de la calibración por adición de una serie de patrones.

Como conclusión a estas primeras experiencias, se determinó que los patrones (método patrón externo) que se iban a utilizar serían los de concentración: 0,025, 0,05, 0,1, 0,5 y $1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$ puesto que los resultados en términos de diferencia de potencial se ajustaban mejor al valor obtenido de una de las muestras de vino a analizar.

De igual manera, para la calibración por adición de patrón, y a la vista de las diferencias de potencial obtenidas tras cada adición, se pensó que las adiciones fueran, inicialmente en el rango entre 0,1 y $1,1 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, si bien esta metodología requiere una “optimización” de la concentración añadida más dependiente de la muestra a analizar y que se detallará a continuación.

Estas condiciones se utilizaron para el análisis de los dos primeros vinos: Casón Histórico y Marques Dos Palacios (6 de las 21 muestras totales). Posteriormente, a la vista de los resultados obtenidos y el estudio de los datos, se realizaron algunas modificaciones que se consideraron razonables y que permitirían una mejor adecuación al resto de muestras. Así, en la metodología basada en la calibración con patrones externos, se añadió un patrón de concentración intermedia, en concreto $0,25 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$.

En el caso de la calibración por adición de una serie de patrones se llevaron a cabo varias modificaciones a lo largo de la realización de este proyecto debido a que la diferencia de potencial obtenida tras las adiciones no siempre era la óptima para su aplicación. De hecho, en trabajos anteriores para análisis de fluoruros en agua, se fijaba un intervalo óptimo de diferencia de potencial antes y después de la adición de entre 28 y 48 mV (7). Es por ello que, como la concentración inicial de fluoruros era distinta en cada tipo de

vino, la señal eléctrica generada también lo era y, en consecuencia, la adición de patrón podía quedarse corta (originar diferencias de potencial por debajo de 28) o larga (originar diferencias de potencial por encima de 48). Para modular esa diferencia fue necesario “ajustar” la adición para cada tipo de muestra. En concreto, para las muestras de Casón Histórico y Marques Dos Palacios se adicionaron: 0,3, 0,5, 0,7, 0,9 y 1,1 mg·L⁻¹. Para las muestras de Tabanedo se realizaron 4 adiciones de 0,1 mg·L⁻¹ cada una y para las muestras de Eroski, Monte Ducay, Caifas y L’Antigón las 4 adiciones realizadas fueron de 0,2 mg·L⁻¹ cada una.

Estas modificaciones “sobre la marcha” son normales -incluso necesarias- ya que no se tenían referencias ni de la concentración de fluoruros en esas muestras ni de la utilización de metodologías de calibración por adición de una serie de patrones en el análisis de fluoruros en vino usando el electrodo selectivo de iones.

7.2. CALIBRACIÓN CON PATRONES EXTERNOS

Para proceder al análisis de una muestra de vino utilizando la calibración con patrones externos, se prepararon: el blanco, los patrones de ión fluoruro en el rango de concentraciones fijado y la muestra de vino, tal y como se ha explicado en apartados anteriores.

Se ha elegido uno de los vinos analizados, en concreto el vino tinto Monte Ducay con objeto de mostrarlo como ejemplo de procedimiento de análisis y discusión de los resultados obtenidos. El resto de muestras se trataron de igual manera y los resultados se mostrarán a lo largo de este apartado.

Una vez realizadas todas las medidas se llevó a cabo un estudio de la linealidad del electrodo mediante un curva de calibrado de seis puntos, que correspondía a un rango de concentraciones de entre 0,025 a 1 mg·L⁻¹. En la tabla 13 se puede observar los parámetros de la curva obtenida para 6 patrones de calibración (0,025; 0,05; 0,1; 0,25; 0,5 y 1 mg·L⁻¹, con valores de diferencia de potencial de -10, -19, -34, -58, -73 y -89 mV, respectivamente).

Recta regresión (6 patrones externos)	
Pendiente	-51,0378
Ordenada Origen	-306,3464
Coeficiente de Correlación	-0,9968

Tabla 13. Parámetros recta de regresión de 6 puntos.

Se observó que para este vino, el valor de diferencia de potencial proporcionado por el patrón de calibración más diluido ($0,025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$) era de -10mV , un valor lo suficientemente bajo para hacer sospechar que, en ese rango de concentraciones, la curva E vs $\log [F^-]$ puede no ajustarse todo lo deseable a una recta ajustada por el método de los mínimos cuadrados.

Así, se procedió a la eliminación de ese primer patrón de fluoruros al objeto de observar si mejoraba la linealidad (teóricamente, los puntos de concentraciones de patrón más bajos ofrecen mayores problemas al estar muy cercanos al límite de cuantificación y detección del electrodo). Los resultados arrojados tras esta operación se muestran en la tabla 14 (los mismos patrones que en la tabla 9 salvo el punto $0,025 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, -10 mV).

Recta regresión (5 patrones externos)	
Pendiente	-54,3074
Ordenada Origen	-321,6833
Coefficiente de Correlación	-0,9995

Tabla 14. Parámetros recta de regresión de 5 puntos.

A la vista de esta tabla, se observa que el ajuste por mínimos cuadrados mejora ostensiblemente y, además, el valor de la pendiente obtenida se acerca más a la pendiente teórica del electrodo (30).

Si bien se consideró que para este caso concreto el ajuste era más que suficiente, se pensó en la posibilidad de que, en alguna de las otras calibraciones (para las restantes 20 muestras), el electrodo proporcionase valores más pequeños y se pudiese tener problemas (no es anormal que instrumentos electrónicos proporcionen señales distintas para muestras iguales en función del día de trabajo). Por todo ello, se realizó un ajuste por mínimos cuadrados de los cuatro patrones más concentrados. Se procedió pues a la eliminación del punto correspondiente a $0,05 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$, -19 mV . Los resultados se muestran en la tabla 15. En ella se observa que los valores de pendiente y ordenada en el origen son muy similares a los obtenidos con un ajuste de 5 puntos de calibración. El coeficiente de correlación no es tan bueno como el obtenido para el caso de los 5 puntos, pero también sería asumible para el análisis que se está estudiando.

Recta regresión (4 patrones externos)	
Pendiente	-54,6903
Ordenada Origen	-323,43953
Coefficiente de Correlación	-0,9991

Tabla 15. Parámetros recta de regresión de 4 puntos.

En esta situación, y para este vino en particular, se eligió la recta de calibración de 5 patrones como la óptima y fue la que se utilizó a la hora de llevar a cabo la cuantificación

Insistir en que este razonamiento se llevó a cabo para las 21 muestras analizadas y se eligieron las rectas de regresión obtenidas utilizando 6, 5 o 4 patrones de calibración en función de los criterios arriba consignados.

Para el caso del ejemplo utilizado, el vino tinto Monte Ducay, se eligió la recta de calibración de 5 puntos, que correspondía a un rango de concentraciones de 0,05 a 1 mg·L⁻¹. El resumen de resultados obtenidos para esta muestra fueron los mostrados en las tablas 16 y 17.

Muestra	Señal (mV)	log [F ⁻]	[F ⁻] (mg·L ⁻¹)	Temperatura (°C)
Monte Ducay tinto, 1	-43	-5,131588	0,1754	22,3
Monte Ducay tinto, 2	-44	-5,113174	0,1830	22,4
Monte Ducay tinto, 3	-44	-5,113174	0,1830	22,2

Tabla 16. Valores de las tres repeticiones para vino tinto Monte Ducay.

Los resultados arrojados por la calibración con patrones externos muestran que las tres concentraciones de fluoruro obtenidas son semejantes. En este caso, se procedió a la obtención del valor promedio de las tres medidas.

Muestra	Monte Ducay tinto
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la calibración	5
Pendiente	-54,3074
Ordenada en el origen	-321,6833
Coefficiente de correlación	-0,9995
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1805
RSD %	2,4

Tabla 17. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Monte Ducay.

Si bien en el ejemplo mostrado el resultado obtenido es la media de las tres repeticiones, no en todos los vinos ensayados fue posible ese cálculo. De hecho, en algunos casos no se consideró la utilización de los tres valores obtenidos debido a que uno de ellos difería notablemente con el resto, por lo que ese valor anómalo no fue considerado para la obtención del valor medio de la concentración de fluoruro.

En resumen, se procedió a la obtención de curvas de calibración con seis patrones de fluoruros en el rango de 0,025 a 1,0 mg·L⁻¹. Una vez obtenidas se procedió a estudiar la bondad de la curva de calibración obtenida, así como la proporcionada utilizando 5 y 4 patrones de calibración (eliminando los patrones más diluidos de 0,025 y 0,05 mg·L⁻¹, respectivamente). Ese estudio se basó en el valor de la pendiente, el valor del coeficiente de correlación y el valor de la diferencia de potencial que proporcionaban esos patrones más diluidos). Con todo ello, se decidió, para cada una de las muestras de vino analizadas, cual era la mejor curva de calibración y se aplicaba para que, finalmente, se obtuviesen los valores de diferencia de potencial de la muestra de vino (3 repeticiones).

Con esos tres valores se obtenía la media y el coeficiente de variación (%RSD), salvo en aquellos casos en los cuales uno de los valores obtenidos era manifiestamente diferente de los otros dos, en cuyo caso, la media y el %RSD se obtenían con dos repeticiones.

7.2.1. VINO TINTO

En base al procedimiento utilizado y el criterio de decisión en el estudio de los resultados, explicado en el punto 7.2, a continuación se presentan los resultados obtenidos para todas las muestras de vino tinto por calibración con patrones externos. (Tablas de la 18 a la 24)

Muestra	Casón Histórico
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-54,2721
Ordenada en el origen	-313,5606
Coeficiente de correlación	-0,9982
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1195
RSD %	1,2

Tabla 18. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Casón Histórico.

Muestra	Marques Dos Palacios
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la recta	5
Pendiente	-58,2380
Ordenada en el origen	-338,2281
Coeficiente de correlación	-0,9987
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1337
RSD %	3

Tabla 19. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Marques Dos Palacios.

Muestra	Tabanedo
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-54,4249
Ordenada en el origen	-303,67805
Coeficiente de correlación	-0,9897
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1481
RSD %	8,6

Tabla 20. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Tabanedo.

Muestra	Eroski
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,05 - 1
Número de puntos de la recta	5
Pendiente	-56,6714
Ordenada en el origen	-348,7095
Coeficiente de correlación	-0,9998
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1106
RSD %	8,6

Tabla 21. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Eroski.

Muestra	Monte Ducay
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la recta	5
Pendiente	-54,3074
Ordenada en el origen	-321,6833
Coeficiente de correlación	-0,9995
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1805
RSD %	2,4

Tabla 22. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Monte Ducay.

Muestra	Caifas
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-50,13480
Ordenada en el origen	-270,7876
Coeficiente de correlación	-0,9991
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,2059
RSD %	0

Tabla 23. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Caifas.

Muestra	L'Antigon
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1- 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-48,8585
Ordenada en el origen	-269,7214
Coeficiente de correlación	-0,9978
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,2003
RSD %	14,7

Tabla 24. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto L'Antigon.

7.2.2. VINO BLANCO

Del mismo modo que se ha explicado en el punto 7.2.1. para el vino tinto, se procedió al análisis de los fluoruros existentes en las muestras de vino blanco. A continuación se pueden apreciar las concentraciones promedio después del estudio de todos los resultados, así como las condiciones de operación para cada muestra. (Tablas de la 25 a la 31)

Muestra	Casón Histórico
Rango medida ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-52,6921
Ordenada en el origen	-312,8997
Coeficiente de correlación	-0,9972
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1177
RSD %	11

Tabla 25. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Casón Histórico.

Muestra	Marques Dos Palacios
Rango medida ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-57,7795
Ordenada en el origen	-333,2190
Coeficiente de correlación	-0,99812
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1316
RSD %	3,4

Tabla 26. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Marques Dos Palacios.

Muestra	Tabanedo
Rango medida ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-52,10288
Ordenada en el origen	-290,3917
Coeficiente de correlación	-0,9966
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1241
RSD %	16,4

Tabla 27. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Tabanedo.

Muestra	Eroski
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-55,7896
Ordenada en el origen	-318,6646
Coeficiente de correlación	-0,9999
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1441
RSD %	18,7

Tabla 28. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Eroski.

Muestra	Monte Ducay
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la recta	5
Pendiente	-55,3647
Ordenada en el origen	-315,6829
Coeficiente de correlación	-0,9931
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,2059
RSD %	10,6

Tabla 29. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Monte Ducay.

Muestra	Caifas
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1 - 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-49,9578
Ordenada en el origen	-272,9465
Coeficiente de correlación	-0,9920
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,3412
RSD %	4,6

Tabla 30. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Caifas.

Muestra	L'Antigon
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1- 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-52,04924
Ordenada en el origen	-284,3868
Coeficiente de correlación	-0,9999
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,2079
RSD %	13,2

Tabla 31. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco L'Antigon.

7.2.3. VINO ROSADO

Siguiendo el mismo razonamiento que para el vino tinto y blanco que se acaba de exponer, a continuación se muestran los resultados referentes a las muestras de vino rosado así como los parámetros utilizados para su cuantificación. (Tablas de la 32 a la 38)

Muestra	Casón Histórico
Rango medida ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,05 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-49,9144
Ordenada en el origen	-293,3373
Coeficiente de correlación	-0,9943
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,0954
RSD %	4

Tabla 32. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Casón Histórico.

Muestra	Marques Dos Palacios
Rango medida ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,05 - 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-56,3719
Ordenada en el origen	-326,8174
Coeficiente de correlación	-0,9969
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1123
RSD %	13,5

Tabla 33. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Marques Dos Palacios.

Muestra	Tabanedo
Rango medida ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1 - 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-49,17769
Ordenada en el origen	-269,4880
Coeficiente de correlación	-0,9984
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1447
RSD %	4,7

Tabla 34. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Tabanedo.

Muestra	Eroski
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1 - 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-56,7654
Ordenada en el origen	-324,6043
Coeficiente de correlación	-0,9976
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,0889
RSD %	16

Tabla 35. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Eroski.

Muestra	Monte Ducay
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1 – 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-35,8462
Ordenada en el origen	-205,1247
Coeficiente de correlación	-0,9964
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,1540
RSD %	16,2

Tabla 36. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Monte Ducay.

Muestra	Caifas
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1 - 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-51,9259
Ordenada en el origen	-280,5507
Coeficiente de correlación	-0,9913
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,2891
RSD %	5

Tabla 37. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Caifas.

Muestra	L'Antigon
Rango medida (mg·L ⁻¹)	0,1- 1,0
Número de puntos de la recta	4
Pendiente	-51,0035
Ordenada en el origen	-275,1666
Coeficiente de correlación	-0,9986
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,2299
RSD %	11,5

Tabla 38. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado L'Antigon.

7.3. CALIBRACIÓN POR ADICIÓN DE PATRÓN

De acuerdo a la metodología de calibración por adición de patrón mostrada en el apartado 4.2 de este proyecto y el manual de uso del electrodo selectivo de fluoruros (30), es posible obtener un valor de concentración de ión fluoruro en una muestra -vino en este caso- con dos medidas de diferencia de potencial (antes y después de la adición), siempre y cuando los valores obtenidos, en valor absoluto, se sitúen en 30 mV. Estudios adicionales sobre el análisis de fluoruros en diferentes matrices han situado el intervalo óptimo de trabajo en un rango de diferencias de potencial de entre 28 y 48 mV. Es por ello que, en todos los casos, se ha tomado el valor de adición de patrón que proporcionó un valor de diferencia de potencial, en valor absoluto, superior a 30 mV.

En este proyecto se decidió llevar a cabo una calibración dual, esto es, utilizando por una parte la pendiente teórica (30) -aquella proporcionada por el electrodo selectivo de fluoruros en función de la temperatura- y por la otra, aprovechando que se dispone de las rectas de calibración reales, utilizar esa pendiente -calculada de acuerdo al punto 7.2 de esta memoria-.

7.3.1. PENDIENTE TEÓRICA

La pendiente teórica se ha calculado tal y como indica el manual de instrucciones del electrodo de fluoruros (30), siendo los valores útiles para este proyecto los que se muestran en la tabla 39:

Temperatura	Valor pendiente
0	54,20
10	56,18
20	58,17
25	59,16
30	60,15
40	62,13

Tabla 39. Valores de la pendiente en función de la temperatura.

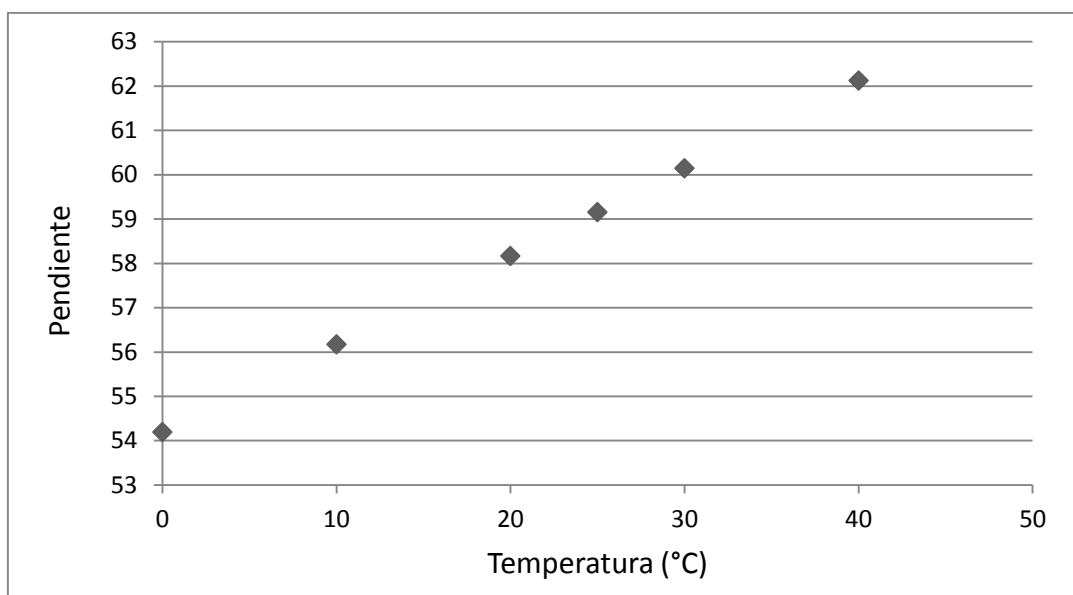


Figura 9. Pendiente del electrodo de fluoruros vs Temperatura de medida (en grados centígrados).

En función de la medida de temperatura (en °C) que proporcionó el sistema para cada muestra, se obtuvo el valor de la pendiente teórica por interpolación matemática. El rango de temperatura observado en la realización de todos los ensayos fue de 14,9 a 26,5°C.

Una vez obtenido el valor de la pendiente, se aplicó la *ecuación 1* para la obtención de la concentración de fluoruros en los distintos vinos analizados. En la tabla 40 se muestra un ejemplo tipo -vino tinto Eroski- de los parámetros obtenidos en el análisis.

Adición [$\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$]	Señal (mV)	Dif. Potencial, ΔE (en valor absoluto)	[F ⁻] ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	Temperatura (°C)
0	-45	---	---	20,6
0,2003	-76	31	0,1044	20,6

Tabla 40. Parámetros obtenidos en la adición de un solo patrón en vino tinto Eroski.

Al igual que en la calibración con patrones externos para cada muestra de vino se realizaron tres medidas, por tanto los resultados que se muestran en los puntos, 7.2.1, 7.2.2 y 7.2.3 son el resultado de ese promedio, salvo en aquellos casos en los cuales uno de los valores obtenidos era manifiestamente diferente de los otros dos, en cuyo caso, la media y la %RSD se obtenían con dos repeticiones

7.3.1.1. VINO TINTO

En base al procedimiento explicado, la tabla 41 presenta las diferencias de potencial, en valor absoluto, obtenidas para cada muestra de vino tinto.

Vino	Dif. Potencial, ΔE (en valor absoluto)
Casón Histórico 1	37
Casón Histórico 2	43
Casón Histórico 3	39
Marques Dos Palacios 1	32
Marques Dos Palacios 2	38
Marques Dos Palacios 3	37
Tabanedo 1	32
Tabanedo 2	31
Tabanedo 3	35
Eroski 1	36
Eroski 2	43
Eroski 3	31
Monte Ducay 1	36
Monte Ducay 2	36
Monte Ducay 3	34
Caifas 1	38
Caifas 2	38
Caifas 3	30
L'Antigon 1	30
L'Antigon 2	31
L'Antigon 3	34

Tabla 41. Valores de diferencia de potencial, en valor absoluto, para los vinos tintos analizados.

En las siguientes tablas (de la 42 a la 48) se muestran los resultados obtenidos, la concentración adicionada en cada ensayo y los parámetros de operación.

Muestra	Casón Histórico
Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,3011
Pendiente	58,4540
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1007
RSD %	14,3

Tabla 42. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Casón Histórico.

Muestra	Marques Dos Palacios
Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,3011
Pendiente	58,4804
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1240
RSD %	17,8

Tabla 43. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Marques Dos Palacios.

Muestra	Tabanedo
Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,3999
Pendiente	58,1168
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1732
RSD %	12,1

Tabla 44. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Tabanedo.

Muestra	Eroski
Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,3999
Pendiente	58,2755
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1083
RSD %	5,2

Tabla 45. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Eroski.

Muestra	Monte Ducay
Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,3999
Pendiente	58,6622
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1674
RSD %	6,2

Tabla 46. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Monte Ducay.

Muestra	Caifas
Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,5986
Pendiente	58,4242
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,2185
RSD %	1,3

Tabla 47. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto Caifas.

Muestra	L'Antigon
Adición ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,5986
Pendiente	58,8208
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1995
RSD %	6,7

Tabla 48. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino tinto L'Antigon.

7.3.1.2. VINO BLANCO

Del mismo modo que para el vino tinto se presentan las diferencias de potencial, en valor absoluto, (tabla 49) y los resultados de concentración para cada muestra de vino blanco. (Tablas de la 50 a la 56)

Vino	Dif Potencial, ΔE (en valor absoluto)
Cason Histórico 1	36
Cason Histórico 2	34
Cason Histórico 3	36
Marques Dos Palacios 1	43
Marques Dos Palacios 2	38
Marques Dos Palacios 3	37
Tabanedo 1	34
Tabanedo 2	32
Tabanedo 3	34
Eroski 1	40
Eroski 2	36
Eroski 3	43
Monte Ducay 1	35
Monte Ducay 2	32
Monte Ducay 3	36
Caifas 1	35
Caifas 2	30
Caifas 3	34
L'Antigon 1	35
L'Antigon 2	37
L'Antigon 3	31

Tabla 49. Valores de diferencia de potencial, en valor absoluto, para vinos blancos analizados.

Muestra	Casón Histórico
Adición máxima (ppm)	0,3011
Pendiente	58,61260637
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,12540
RSD %	6,6

Tabla 50. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Casón Histórico.

Muestra	Marques Dos Palacios
Adición máxima (ppm)	0,3011
Pendiente	58,1466
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1013
RSD %	15,1

Tabla 51. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Marques Dos Palacios.

Muestra	Tabanedo
Adición máxima (ppm)	0,3999
Pendiente	58,4936
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1538
RSD %	14,7

Tabla 52. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Tabanedo.

Muestra	Eroski
Adición máxima (ppm)	0,3999
Pendiente	58,4837
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1349
RSD %	17,7

Tabla 53. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Eroski.

Muestra	Monte Ducay
Adición máxima (ppm)	0,3999
Pendiente	58,3647
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1755
RSD %	11,4

Tabla 54. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Monte Ducay.

Muestra	Caifas
Adición máxima (ppm)	0,7966
Pendiente	58,2457
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,3403
RSD %	3,6

Tabla 55. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco Caifas.

Muestra	L'Antigon
Adición máxima (ppm)	0,5986
Pendiente	58,5234
Resultado (mg·L ⁻¹)	0,2311
RSD %	9,5

Tabla 56. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino blanco L'Antigon.

7.3.1.3. VINO ROSADO

A continuación se presentan las diferencias de potencial, en valor absoluto, (tabla 57) y los resultados de concentración para cada muestra de vino rosado. (Tablas de la 58 a la 64)

Vino	Dif Potencial, ΔE (en valor absoluto)
Cason Histórico 1	37
Cason Histórico 2	34
Cason Histórico 3	38
Marques Dos Palacios 1	39
Marques Dos Palacios 2	34
Marques Dos Palacios 3	46
Tabanedo 1	32
Tabanedo 2	34
Tabanedo 3	32
Eroski 1	39
Eroski 2	33
Eroski 3	33
Monte Ducay 1	30
Monte Ducay 2	31
Monte Ducay 3	34
Caifas 1	37
Caifas 2	36
Caifas 3	36
L'Antigon 1	36
L'Antigon 2	30
L'Antigon 3	31

Tabla 57. Valores de diferencia de potencial, en valor absoluto, para vinos rosados analizados.

Muestra	Casón Histórico
Adición máxima (ppm)	0,3011
Pendiente	58,6572
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1121
RSD %	3,4

Tabla 58. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Casón Histórico.

Muestra	Marques Dos Palacios
Adición máxima (ppm)	0,5018
Pendiente	57,8888
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1162
RSD %	16,8

Tabla 59. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Marques Dos Palacios.

Muestra	Tabanedo
Adición máxima (ppm)	0,3999
Pendiente	57,2145
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,1846
RSD %	6,2

Tabla 60. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Tabanedo.

Muestra	Eroski
Adición máxima (ppm)	0,2003
Pendiente	58,6324
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,0861
RSD %	17

Tabla 61. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Eroski.

Muestra	Monte Ducay
Adición máxima (ppm)	0,5986
Pendiente	58,0276
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,3199
RSD %	4

Tabla 62. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Monte Ducay.

Muestra	Caifas
Adición máxima (ppm)	0,5986
Pendiente	58,2061
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,2346
RSD %	3

Tabla 63. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado Caifas.

Muestra	L'Antigon
Adición máxima (ppm)	0,5986
Pendiente	58,4440
Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	0,2241
RSD %	6,9

Tabla 64. Parámetros de la cuantificación de ión fluoruro en vino rosado L'Antigon.

7.3.2. PENDIENTE REAL

En este caso se utilizó la pendiente real obtenida en la calibración con patrones externos del apartado 7.2. Obsérvese la pendiente elegida para cada muestra en las tablas de la 18 a la 38.

Fijado el valor de la pendiente, el procedimiento en el cálculo de la concentración de ión fluoruro en cada muestra fue el mismo que para la adición de un solo patrón con pendiente teórica. (Punto 7.3.1). Ecuación 1.

7.3.2.1. VINO TINTO

Muestra	Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD %
Casón Histórico	0,0910	15,7
Marques Dos Palacios	0,1231	18,2
Tabanedo	0,1423	3,4
Eroski	0,1027	4,5
Monte Ducay	0,1447	6,4
Caifas	0,1625	3,5
L'Antigon	0,1586	17,9

Tabla 65. Tabla de resultados para los vinos tintos analizados.

7.3.2.2. VINO BLANCO

Vino	Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD %
Casón Histórico	0,1025	11,7
Marques Dos Palacios	0,1231	18,2
Tabanedo	0,1241	14,6
Eroski	0,1228	18,2
Monte Ducay	0,1592	11,7
Caifas	0,2555	3,1
L'Antigon	0,1853	8,9

Tabla 66. Tabla de resultados para los vinos blancos analizados.

7.3.2.3. VINO ROSADO

Vino	Resultado ($\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$)	RSD %
Casón Histórico	0,0811	2,2
Marques Dos Palacios	0,1267	3,2
Tabanedo	0,1390	6,7
Eroski	0,0811	17,3
Monte Ducay	0,1143	14,8
Caifas	0,1879	3,2
L'Antigon	0,1745	5,8

Tabla 67. Tabla de resultados para los vinos rosados analizados.

7.4. CALIBRACIÓN POR ADICIÓN DE UNA SERIE DE PATRONES

Tras la revisión bibliográfica previa a la realización de este proyecto fin de carrera, no parece que el uso de la calibración por adición de una serie de patrones para la determinación de la concentración de ión fluoruro sea habitual, más al contrario, es realmente difícil encontrar una referencia bibliográfica en la que se informe de su utilización.

En esta situación, se planteó la posibilidad de llevar a cabo este tipo de calibración que podría completar las otras metodologías -más habituales- del análisis de iones fluoruros por electrodos selectivos.

Como primera aproximación, se representaron gráficamente las alícuotas de muestra adicionadas con concentraciones conocidas de fluoruro frente a la señal obtenida. En la figura 10 se observa el resultado. En la tabla 68 se muestran los datos -vino tinto L'Antigon-que originaron la figura 10. A la vista de la forma de la curva, se intentó ajustarla a un polinomio de segundo grado.

Adición [mg·L ⁻¹]	Señal (mV)
0,0000	-19
0,2003	-39
0,3999	-52
0,5986	-60
0,7966	-66

Tabla 68. Valores a representar.

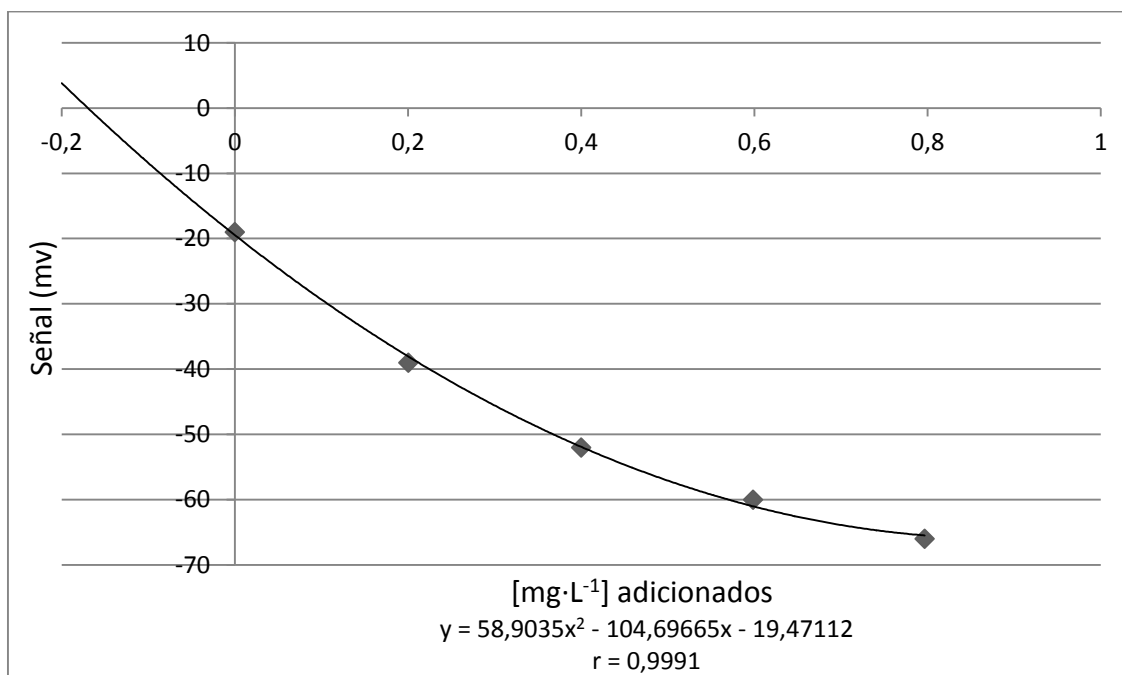


Figura 10. Representación gráfica ajustada a una ecuación de segundo grado.

En la misma figura se presenta tanto la ecuación correspondiente como el coeficiente de correlación así obtenido. Resolviendo la ecuación de segundo grado se obtuvo la concentración de fluoruros de la muestra.

7.4.1. VINO TINTO

En la línea mostrada en el apartado anterior, se procedió a “ajustar” los datos de muestras adicionadas frente a los valores de señal que arrojaban para todos los vinos analizados. El citado ajuste, a un polinomio de segundo grado, mostró unos valores adecuados de coeficiente de correlación.

En la siguiente tabla (tabla 69) se muestran los valores promedio de concentración de fluoruros para cada muestra de vino, el número de puntos utilizados en la curva de calibrado, el coeficientes de correlación, así como el rango de medida de las adiciones (mg·L⁻¹) y la desviación estándar relativa.

Muestra	Rango medida (mg·L ⁻¹)	Número de puntos en la curva	Coeficiente de correlación	Resultado (mg·L ⁻¹)	RSD %
Casón Histórico	0-3,39	3	1,0000	0,1400	10,1
Marques Dos Palacios	0-3,39	3	1,0000	0,1900	0
Tabanedo	0-0,40	5	0,9972	0,1450	14,6
Eroski	0-0,80	5	0,9968	0,2800	10,1
Monte Ducay	0-0,80	5	0,9985	0,3300	5,2
Caifas	0-0,80	5	0,9994	0,1800	5,6
L' Antigón	0-0,80	5	0,9994	0,2133	24,1

Tabla 69. Parámetros de cuantificación y resultados para vinos tintos.

7.4.2. VINO BLANCO

Los resultados para las muestras de vino blanco son los siguientes:

Muestra	Rango medida (mg·L ⁻¹)	Número de puntos en la curva	Coeficiente de correlación	Resultado (mg·L ⁻¹)	RSD %
Casón Histórico	0-3,39	3	1,0000	0,1700	0
Marques Dos Palacios	0-3,39	3	1,0000	0,1500	0
Tabanedo	0-0,40	5	0,9988	0,0900	15,7
Eroski	0-0,80	5	0,9961	0,2000	22,9
Monte Ducay	0-0,80	5	0,9981	0,2867	13,2
Caifas	0-0,80	5	0,9998	0,4100	0
L' Antigón	0-0,80	5	0,9996	0,2200	18,2

Tabla 70. Parámetros de cuantificación y resultados para vinos blancos.

7.4.3. VINO ROSADO

Por último se presenta la tabla de resultados para vinos rosados:

Muestra	Rango medida (mg·L ⁻¹)	Número de puntos en la curva	Coeficiente de correlación	Resultado (mg·L ⁻¹)	RSD %
Casón Histórico	0-3,39	3	1,0000	0,1400	0
Marques Dos Palacios	0-3,39	3	0,9999	0,2033	39,4
Tabanedo	0-0,40	5	0,9989	0,1100	9,1
Eroski	0-0,80	5	0,9959	0,0967	26
Monte Ducay	0-0,80	5	0,9987	0,3050	2,3
Caifas	0-0,80	5	0,9998	0,2600	7,7
L' Antigón	0-0,80	5	0,9995	0,2000	22,9

Tabla 71. Parámetros de cuantificación y resultados para vinos rosados.

7.5. COMPARACIÓN DE RESULTADOS

Dado que uno de los objetivos principales de este proyecto era comparar los resultados obtenidos por las distintas metodologías de calibración, se entendió que era necesario mostrar el conjunto de resultados obtenidos en base a ese criterio. No obstante, en este apartado se muestran también comparaciones de resultados basadas en el color del vino y la región de cultivo de cada una de las muestras de vino analizadas.

7.5.1. POR MÉTODO UTILIZADO

A continuación se presenta una tabla resumen (tabla 72) de todos los resultados, que permite llevar a cabo una comparación relativamente fácil de los resultados, en términos de concentración de iones fluoruros, obtenidos para cada vino y por cada metodología de análisis utilizada.

Muestra de vino	Patrón externo	Adición de patrón (un solo patrón)		Adición de patrón (una serie de patrones)
		Calculado según la pendiente teórica	Calculado según la pendiente real	
Casón Histórico TINTO	0,1195	0,1007	0,0910	(0,1400)*
Casón Histórico BLANCO	0,1177	0,1254	0,1025	(0,1700)
Casón Histórico ROSADO	0,0954	0,1121	0,0811	(0,1400)
Marqués dos Palacios TINTO	0,1337	0,1240	0,1231	(0,1900)
Marqués dos Palacios BLANCO	0,1316	0,1013	0,0997	(0,1500)
Marqués dos Palacios ROSADO	0,1123	0,1162	0,1267	(0,2033)
Tabanedo TINTO	0,1481	0,1732	0,1423	0,1450
Tabanedo BLANCO	0,1241	0,1538	0,1241	0,0900
Tabanedo ROSADO	0,1447	0,1846	0,1390	0,1100
Eroski TINTO	0,1106	0,1083	0,1027	0,2800
Eroski BLANCO	0,1441	0,1349	0,1228	0,2000
Eroski ROSADO	0,0889	0,0861	0,0811	0,0967
Monte Duca y TINTO	0,1805	0,1674	0,1447	0,3300
Monte Duca y BLANCO	0,2059	0,1755	0,1592	0,2867
Monte Duca y ROSADO	0,1540	0,3199	0,1143	0,3050
Caifas TINTO	0,2059	0,2185	0,1625	0,1800
Caifas BLANCO	0,3412	0,3403	0,2555	0,4100
Caifas ROSADO	0,2891	0,2346	0,1879	0,2600
L'Antigón TINTO	0,2003	0,1995	0,1586	0,2133
L'Antigón BLANCO	0,2079	0,2311	0,1853	0,2200
L'Antigón ROSADO	0,2299	0,2241	0,1745	0,2000

Tabla 72. Resultados obtenidos en el análisis de fluoruros en muestras de vino utilizando distintas metodologías de calibración.

(*) Los datos mostrados entre paréntesis (y en tinta roja) no se han considerado adecuados ya que se obtuvieron en adiciones que proporcionaron altas diferencias de potencial, por encima del intervalo ideal de trabajo (28-48 mV).

A la vista de los datos de la tabla 72, se observa que los cuatro métodos de calibración utilizados arrojan resultados razonablemente coherentes entre si.

No parece observarse una tendencia clara que favorezca la elección, sin ningún género de dudas, de uno u otro método. En la bibliografía se puede comprobar que algunos de los autores se han inclinado por la utilización de la calibración con patrones externos -una elección, en teoría, obvia-, si bien la mayoría utiliza la calibración por adición de un solo patrón como método de cuantificación. Entre ambas metodologías, la rapidez, la economía –tiempo y dinero- y la supuesta bondad de los resultados obtenidos, decantan a muchos de ellos por la adición de patrón utilizando una pendiente teórica.

En el presente proyecto, la adición de patrón utilizando para el cálculo la pendiente teórica ha arrojado, en algunos casos -que no en todos- valores similares que los obtenidos utilizando la pendiente real. La lógica parece indicar que, ante la duda, siempre será mejor la utilización de una pendiente real que una pendiente teórica, si bien eso requerirá la obtención de una recta de calibración con patrones externos. Es por ello que parece razonable abordar la determinación de fluoruros en muestras de vino desde una perspectiva dual, por una parte llevar a cabo una calibración con patrones externos y por la otra realizar una adición de un solo patrón y utilizar la pendiente de la recta obtenida para la calibración con patrones externos en el cálculo de la concentración de los fluoruros. Esta dualidad permite la obtención de dos resultados para cada muestra analizada. Además, siempre se podrá obtener un tercer resultado si se utiliza la pendiente teórica del electrodo.

La utilización de una calibración por adición de una serie de patrones en la determinación de fluoruros en vino se ha mostrado, en la mayoría de los casos, como una opción válida, si bien su relativamente mayor complejidad -en términos tanto de preparación práctica como de cálculos necesarios para la obtención de concentraciones de fluoruros- parece descartarla como primera opción.

7.5.2. POR COLOR DEL VINO

En la tabla 73 y en la figura 11 se muestran los resultados de concentración de fluoruros como valores promedio (media aritmética de entre los cuatro valores obtenidos por los diferentes métodos de calibración utilizados), además de la desviación estándar relativa.

MUESTRA	Vino TINTO		Vino BLANCO		Vino ROSADO	
	[F ⁻]	%RSD	[F ⁻]	%RSD	[F ⁻]	%RSD
Casón Histórico	0,1152	10,1	0,0962	16,1	0,1037	14,0
Marques Dos Palacios	0,1269	4,6	0,1109	16,2	0,1184	6,3
Tabanedo	0,1522	9,4	0,1230	21,2	0,1446	21,2
Eroski	0,1504	57,5	0,1505	22,7	0,0882	7,4
Monte Ducay	0,2057	40,9	0,2068	27,4	0,2233	46,7
Caifas	0,1917	13,2	0,3368	18,8	0,2429	17,7
L'Antigón	0,1929	12,3	0,2111	9,3	0,2071	12,2

Tabla 73. Concentración –promedio- de iones fluoruro en los vinos analizados calculados por los cuatro métodos de calibración empleados. Se presenta también los valores de %RSD obtenidos en el cálculo de esos promedios.

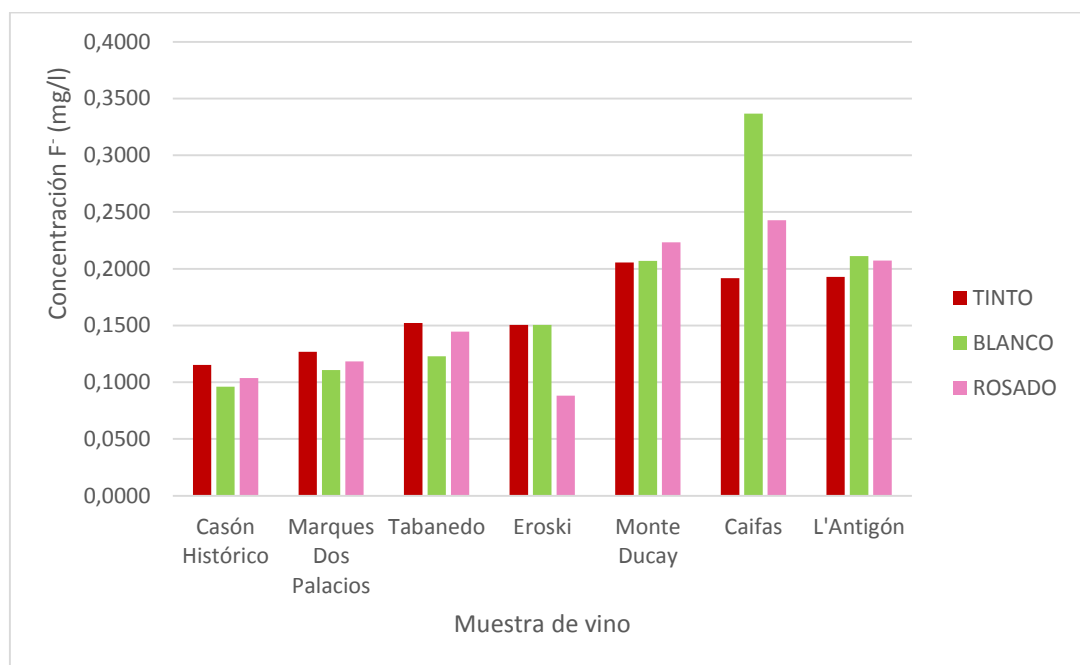


Figura 11. Comparación de los promedios de las concentraciones de fluoruro en las muestras de vino analizadas.

Al observarse que las desviaciones estándar resultantes al calcular los valores promedio presentaban, en algunos casos, valores muy elevados, y de acuerdo a lo expresado en el punto 7.5.1 acerca de la prácticamente nula utilización de la calibración por adición una serie de patrones, se procedió a eliminar dichos datos de los promedios. La tabla 74, en la que solo se tuvieron en cuenta la calibración con patrones externos y calibración con adición de un solo patrón (tanto utilizando la pendiente teórica como la real), muestra como se modifican los resultados tras esa eliminación.

MUESTRA	Vino TINTO		Vino BLANCO		Vino ROSADO	
	[F ⁻]	%RSD	[F ⁻]	%RSD	[F ⁻]	%RSD
Casón Histórico	0,1152	10,1	0,0962	16,1	0,1037	14,0
Marques Dos Palacios	0,1269	4,6	0,1109	16,2	0,1184	6,3
Tabanedo	0,1545	10,6	0,1340	12,8	0,1561	15,9
Eroski	0,1072	3,8	0,1339	8,0	0,0854	4,6
Monte Ducay	0,1642	11,0	0,1802	13,2	0,1961	55,6
Caifas	0,1956	15,0	0,3123	15,8	0,2372	21,4
L'Antigón	0,1861	12,8	0,2081	11,0	0,2095	14,5

Tabla 74. Concentración –promedio- de iones fluoruro en los vinos analizados calculados por los tres métodos de calibración empleados (se ha eliminado el resultado obtenido con calibración por adición de una serie de patrones). Se presenta también los valores de %RSD obtenidos en el cálculo de esos promedios.

Ciertamente se han conseguido disminuir algunos valores de % RSD, si bien también es cierto que no parece que la solución ensayada sea la definitiva.

7.5.3. POR REGIÓN DE CULTIVO DEL VINO

Se estudiaron por último los resultados obtenidos (siempre agrupados en función del color) según la región donde fue cultivado cada vino. Para ilustrar este apartado se presentan los siguientes mapas donde pueden observarse los valores promedio (tabla 73) para cada muestra de vino.

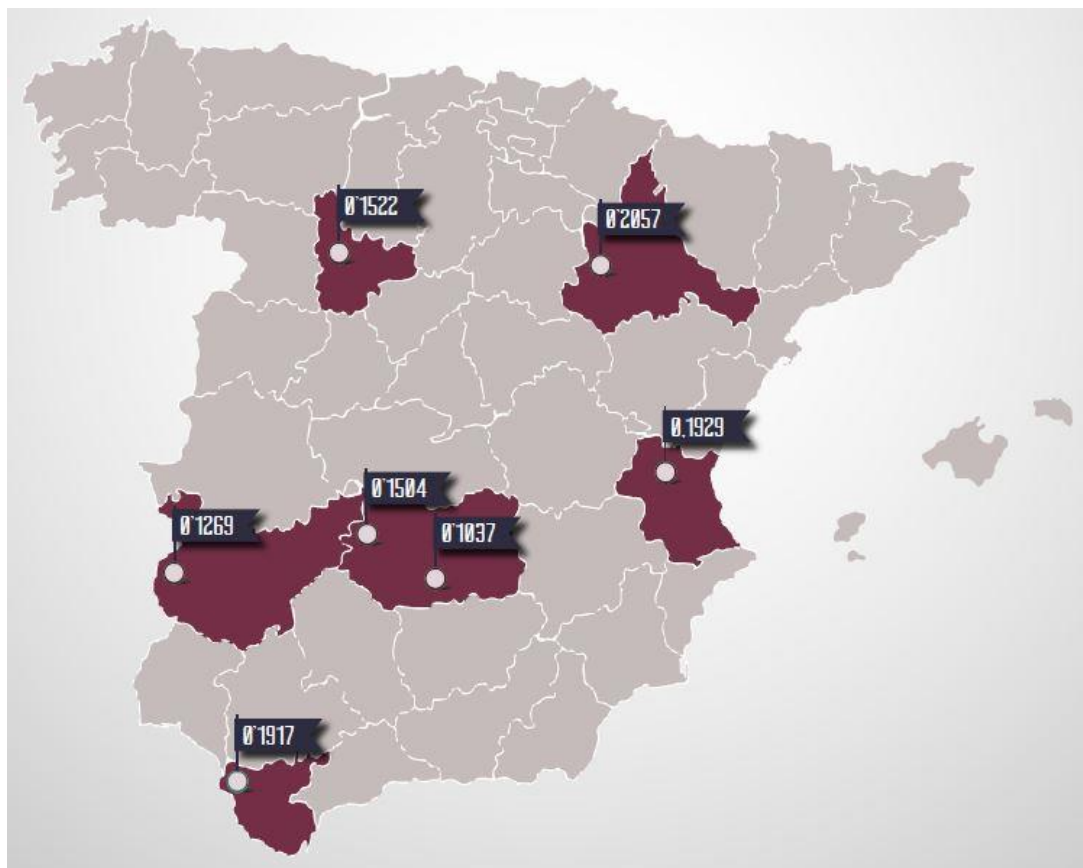


Figura 12. Distribución geográfica con valores de vinos tintos.

En cuanto a un análisis regional, a la vista de la figura 12, parece intuirse que para el conjunto de muestras de vinos analizadas en este proyecto, los vinos tintos cuyo cultivo ha sido en provincias costeras (Valencia y Cádiz) o relativamente cercanas a la costa (Zaragoza) la concentración de fluoruros parece ser más elevada que en el resto de vinos cultivados en zonas del interior peninsular.

Los vinos con las concentraciones de fluoruros más bajas corresponden a dos provincias limítrofes situadas en la zona centro del interior peninsular. (Badajoz y Ciudad Real)

Así bien, cabe destacar, que dos vinos cuyo origen reside en la misma provincia (Ciudad Real) cifran una considerable diferencia en su concentración de ión fluoruro.

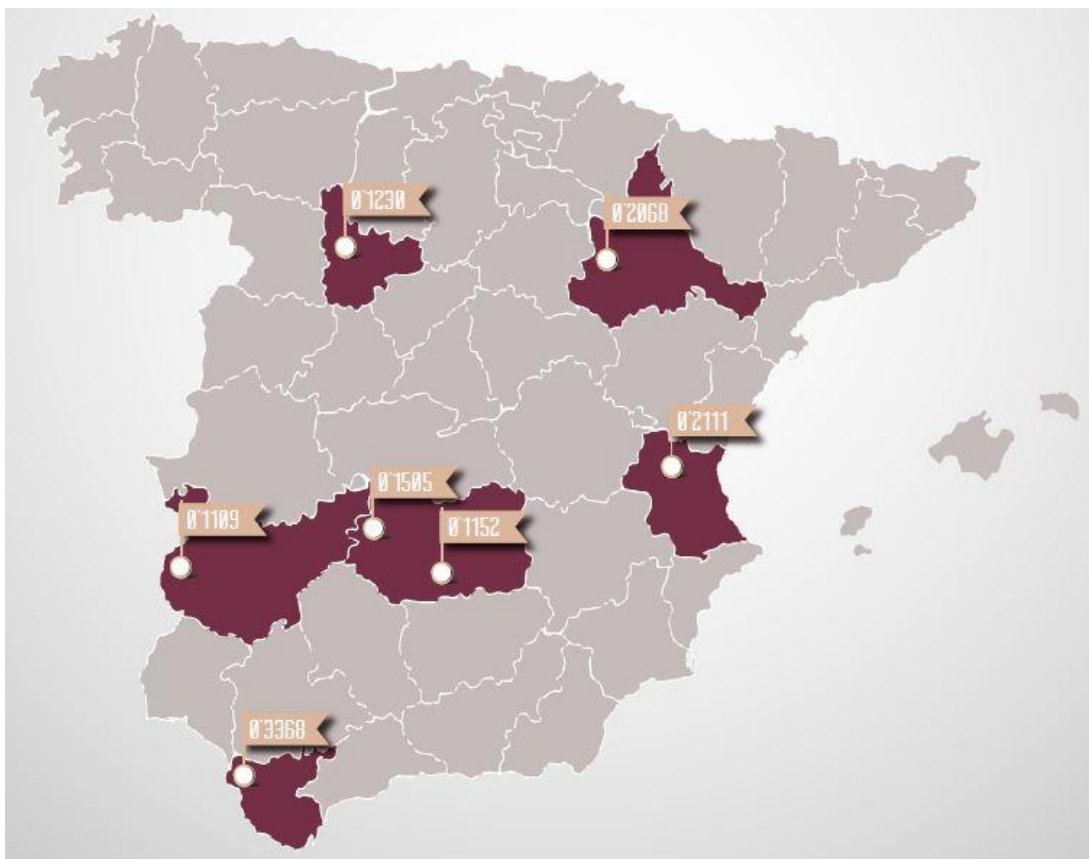


Figura 13. Distribución geográfica con valores de vinos blancos.

Al igual que ocurre con los vinos tintos los vinos de mayor concentración son los de las zonas costeras. Obteniendo en este caso una notable diferencia en el vino andaluz.

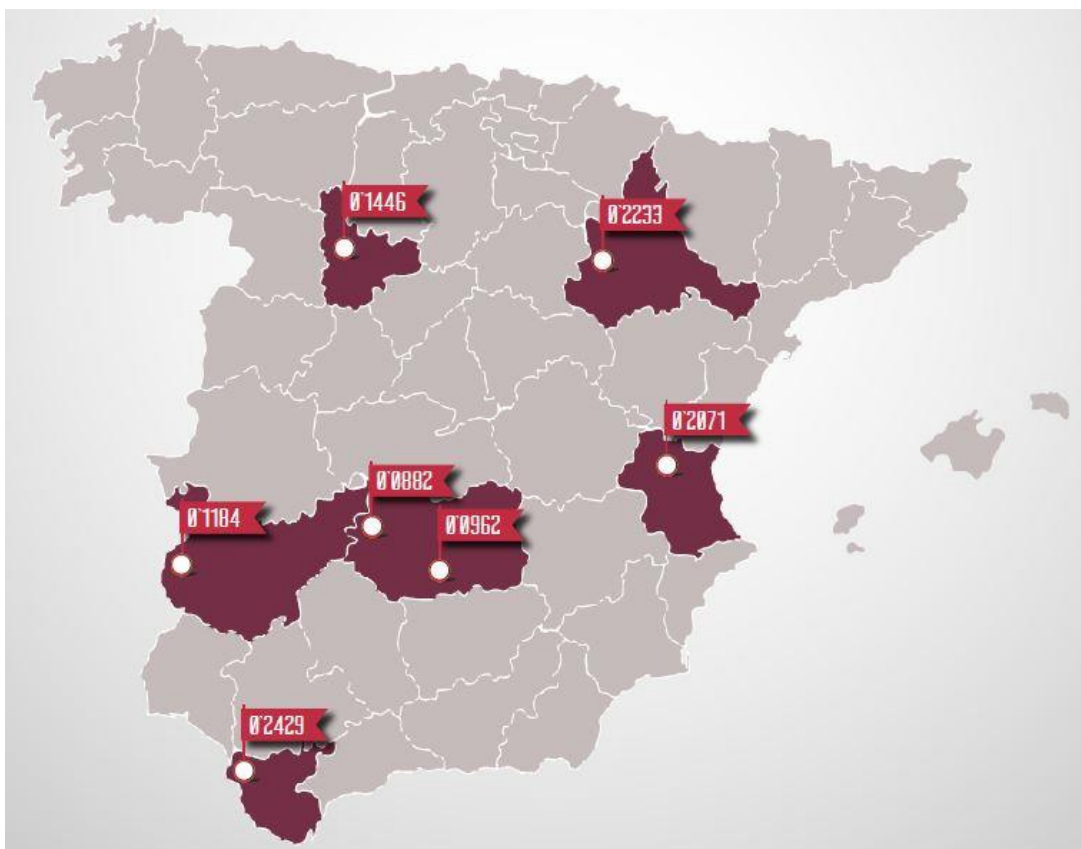


Figura 14. Distribución geográfica con valores de vinos rosados.

En el caso de los vinos rosados, se cumplen los supuestos mencionados en los dos puntos anteriores, y cabe añadir que en este caso los dos vinos de menor nivel de fluoruros coinciden en la misma provincia, siendo esta vez sus valores muy próximos entre sí.

7.5.4. COMPARACIÓN CON OTRAS REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Durante la realización del proyecto y la subsiguiente redacción de esta memoria, se han mantenido un número de cifras significativas superior al marcado por las distintas regulaciones de presencia de fluoruros. Esta decisión se tomó, fundamentalmente, en aras de observar mejor las diferencias -en caso de que las hubiera- en los resultados arrojados por los distintos métodos de calibración utilizados.

Es ahora cuando se plantean los resultados “ajustados” a las cifras significativas marcadas por las regulaciones y con la mayoría de los resultados publicados en la bibliografía.

Muestra	Vino Tinto	Vino Blanco	Vino Rosado
	[F ⁻]	[F ⁻]	[F ⁻]
Casón Histórico	0,12	0,10	0,10
Marques Dos Palacios	0,13	0,11	0,12
Tabanedo	0,15	0,12	0,14
Eroski	0,15	0,15	0,09
Monte Ducay	0,21	0,21	0,22
Caifas	0,19	0,34	0,24
L'Antigón	0,19	0,21	0,21

Tabla 75. Datos obtenidos en este proyecto ajustados a las cifras significativas marcadas por las regulaciones.

Así bien, se ha considerado oportuna la comparación de los resultados obtenidos en este proyecto en contenido en fluoruros para las diferentes muestras de vino (Tabla 75), con los resultados obtenidos análogamente por Hardisson A. (9), en su estudio de la evolución del contenido en ion fluoruro en vinos embotellados de mayor comercialización en Canarias tanto de la Comunidad Autónoma de Canarias como Peninsulares. (Tabla 76)

Tal y como se ha comentado a lo largo del proyecto, la composición de fluoruros en vino depende de diversos factores (terreno, clima, etc.), por tanto, solo se han tenido en cuenta los resultados bibliográficos referentes a vinos peninsulares, los cuales, en teoría, deberían ser más “parecidos” a los analizados en este proyecto.

Vino Tinto		Vino Blanco		Vino Rosado	
D.O	[F ⁻]	D.O	[F ⁻]	D.O	[F ⁻]
Rioja	0,25	Cataluña	0,37	Cataluña	0,29
Rioja	0,26	Penedés	0,46	Penedés	0,27
Rioja	0,27	Rioja	0,24	Rioja	0,29
Rioja	0,28	Rioja	0,28	Rioja	0,29
Rioja	0,28	Rioja	0,33	Rioja	0,36
Rioja	0,29	Rioja	0,37	Valdepeñas	0,23
Valdepeñas	0,27	Rioja	0,46	Vino de Mesa	0,32
Valdepeñas	0,27	Valdepeñas	0,22	Vino de Mesa	0,36
Vino de Mesa	0,28	Vino de Mesa	0,28	Vino de Mesa	0,45
Vino de Mesa	0,44	Vino de Mesa	0,38		

Tabla 76. Datos bibliográficos de concentración de fluoruros en vinos peninsulares. Rango de concentraciones: 0,23-0,44 mg·L⁻¹.

A la vista de los datos mostrados en las tablas 75 y 76 puede comprobarse que los resultados obtenidos en el presente proyecto son, en general, menores que los mostrados en la bibliografía -teniendo en cuenta que la comparación no es directa

puesto que no se trata de los mismos vinos ni tan siquiera de las mismas denominaciones de origen-, si bien parece asumible pensar que se encuentran en el rango de lo esperable.

8. CONCLUSIONES

La primera de las conclusiones a la vista de los resultados mostrados a lo largo de esta memoria es que ninguno de los vinos ha superado el límite máximo de concentración de ión fluoruro en vino establecido por la Organización Internacional del Vino (OIV) ($1,0 \text{ mg}\cdot\text{L}^{-1}$).

En términos de metodologías de calibración, parece razonable abordar la determinación de fluoruros en muestras de vino desde una perspectiva dual, por una parte llevar a cabo una calibración con patrones externos y por la otra realizar una adición de un solo patrón y utilizar la pendiente de la recta obtenida para la calibración con patrones externos en el cálculo de la concentración de los fluoruros. Esta dualidad permite la obtención de dos resultados para cada muestra analizada. Además, siempre se podrá obtener un tercer resultado si se utiliza la pendiente teórica del electrodo con un trabajo adicional mínimo.

La utilización de una calibración por adición de una serie de patrones en la determinación de fluoruros en vino se ha mostrado, en la mayoría de los casos, como una opción válida, si bien su relativamente mayor complejidad -en términos tanto de preparación práctica como de cálculos necesarios para la obtención de concentraciones de fluoruros- parece descartarla como primera opción. De hecho, en la bibliografía no es habitual encontrarla como un método de calibración óptimo para la determinación de fluoruros, ni en vino ni en ninguna otra matriz.

Como ya se ha comentado, los resultados obtenidos están todos muy por debajo del límite máximo permitido por la Organización Internacional del Vino (OIV). Comparando los resultados con los publicados para distintos tipos y denominaciones de origen de vinos, los resultados obtenidos en este proyecto son menores de los allí encontrados, si bien sus valores encajan perfectamente en los valores esperables.

9. BIBLIOGRAFÍA

- (1) **OIV. Organización Internacional de la Viña y el Vino.**
<http://www.oiv.int/> (Última consulta 14/10/2014)
- (2) **Blog “Fundamentos de la Enología”**
<http://fundamentosdeenologia.wordpress.com/2013/02/20/el-vino-y-su-clasificacion/> (Última consulta 30/10/2014)
- (3) **“Spanish Gourmet”**
http://www.spanish-gourmet.com/vinos/e_vino2.html (Última consulta 4/11/2014)
- (4) <http://blogs.20minutos.es/yaestaellistoquetodolosabe/%C2%BFcual-es-la-diferencia-entre-la-elaboracion-del-vino-tinto-rosado-y-blanco/> (Última consulta 14/11/2014)
- (5) **Diferencias entre la elaboración de los vinos blancos, rosados y tinto.** Vinum in Anima. Blog de Vinícola de Castilla.
<http://vinuminanima.wordpress.com/2012/11/23/diferencias-entre-la-elaboracion-de-los-vinos-blancos-rosados-y-tintos/> (Última consulta 14/11/2014)
- (6) **Flúor y fluoruros. SEOP. Sociedad Española de Odontopediatría.**
http://www.odontologiapediatrica.com/documento_sobre_el_fluor (Última consulta 13/11/2014)
- (7) **Determinación de fluoruros en productos de higiene dental y alimentarios (aguas y sal) utilizando un electrodo selectivo, Andrés Nicolás Ygartua, Proyecto Fin de Carrera, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, 2014**
- (8) **Determinación del contenido en fluoruro en infusiones y refrescos de té, utilizando un electrodo selectivo.** Arantxa Bádenas Castellano, Proyecto Fin de Carrera, Universidad de Zaragoza, Zaragoza, 2013
- (9) **Determinación del contenido en ión fluoruro de vinos embotellados de distintas denominaciones de origen de la comunidad autónoma canaria y de la península.** Hardisson A., Rodríguez M.I., Burgos A., Álvarez R., Díaz Flores L. Área de toxicología. Facultad de Medicina y Farmacia. Universidad de La Laguna. Tenerife.
<http://www.tenerife.es/Casa-vino/jornadas/pdf/PDF%20JORNADAS%20III/113-120%20Determinacion%20del%20contenido%20en%20ION%20floruro.pdf> (Última consulta 13/11/2014)
- (10) **Acenología. Revista de Enología científica y profesional.** Associació Catalana d'enòlegs.
http://www.acenologia.com/cienciaytecnologia/quimica_color_vino_cienc1213.htm (Última consulta 21/10/2014)
- (11) **Bioquímica del vino. Sociedad española de Bioquímica y Biología Molecular.**
http://www.sebbm.com/revista/imagenes/revistasebbm_0176.pdf (Última consulta 3/11/2014)

- (12) **Composición de uvas y vinos. Componentes químicos del vino tinto Tannat.** Eduardo Dellacassa. Sección Enología y Cátedra de Farmacognosia y Productos Naturales, Facultad de Química, Universidad de la República. <http://www.biofisica.fmed.edu.uy/quimica%20de%20la%20uva%20y%20el%20%20vino.pdf> (Última consulta 25/10/2014)
- (13) **“The Gourmet Journal”** Periódico digital de Gastronomía <http://thegourmetjournal.com/noticias/un-poco-de-historia-sobre-el-vino/> (Última consulta 2/11/2014)
- (14) **Efectos del vino sobre el organismo.** Instituto de Nutrición y Tecnología de los Alimentos. Artículo para “PulevaSalud” de la Dra. D^a. Ana Haro García. http://www.pulevasalud.com/ps/subcategoria.jsp?ID_CATEGORIA=2611&RUTA=1-2-45-2036-2037-2611 (Última consulta 27/10/2014)
- (15) **Cuatro beneficios de beber vino que deberías conocer.** Revista Muy Interesante. <http://www.muyinteresante.es/salud/articulo/cuatro-beneficios-de-beber-vino-que-deberias-conocer-471366785231> (Última consulta 15/09/2014)
- (16) **Vinos de España.** Bodegas y vinos. <http://bodegasyvinos.com/espana/> (Última consulta 27/10/2014)
- (17) **Enciclopedia de Química Industrial.** Edward Thorpe. Editorial LABOR, SA. (Edición 1927)
- (18) **ATDSR. Agency for toxic substances and disease registry. FLUORIDES, HYDROGEN FLUORIDE, AND FLUORINE.** Artículo de Septiembre de 2003.
- (19) **Flúor. Beneficios para la salud humana.** Artículo por Roger Benito Olivares (Licenciado en Ciencias Químicas) y Joaquim Nogueras Bayona (Licenciado en Odontología) para Grupo Vichy Catalan. http://www.grupovichycatalan.es/docs/VC1_8.pdf (Última consulta 1/11/2014)
- (20) **Nattural Saluzvir.** <http://www.rdnattural.es/plantas-y-nutrientes-para-el-organismo/minerales/fluor/> (Última consulta 1/11/2014)
- (21) **Servicio Canario de la Salud.** http://www2.gobiernodecanarias.org/sanidad/scs/scs/3/3_5/3_5_1/_fter_3/fluor/general/002.jsp (Última consulta 2/11/2014)
- (22) **Componentes principales de la uva y de los vinos.** Consellería do medio rural. Estación de viticultura e enoloxía de Galicia (Evega). XUNTA DE GALICIA. http://www.medioruralemar.xunta.es/fileadmin/arquivos/investigacion/transfereencia_tecnologica/componentes_uva_vino.pdf (Última consulta 19/11/2014)
- (23) **Análisis químico cuantitativo.** Daniel C.Harris. Editorial Reverté.
- (24) **Química Analítica 2.** Facultad de Ciencias Exactas y Naturales. Universidad de Antioquia. <http://docencia.udea.edu.co/cen/QuimicaAnaliticaII/index.html> (Última consulta 4/11/14)

- (25) **Espectrofotometría.** Fundamentos químicos. Universidad de Girona.
<http://www.bioquimica.ucv.cl/paginas/central/bioquimica%20clinica/apuntes%20de%20espectrofotometria.pdf> (Última consulta 4/11/14)
- (26) **Laboratorio de técnicas instrumentales.** UVA. Valladolid.
<http://laboratoriotecnicasinstrumentales.es/analisis-quimicos/cromatografa-inica>
(Última consulta 4/11/14)
- (27) **Métodos Potenciométricos.**
http://ocw.usal.es/ciencias-experimentales/analisis-aplicado-a-la-ingenieria-quimica/contenidos/course_files/Tema_8.pdf (Última consulta 16/11/2014)
- (28) **Wines from Spain.** ICEX España Exportación e Inversiones.
<http://www.winesfromspain.com/> (Última consulta 7/11/2014)
- (29) **Química del flavor del vino.** Ronald J. Clarke y Jokie Bakker. Editorial ACRIBIA, S.A. Zaragoza (España).
- (30) **Electrodo selectivo fluoruro.** Manuel de usuario. Crison Instruments S,A. Barcelona (ESPAÑA)
- (31) **Electrodo de referencia.** Manual de usuario. Crison Instruments S,A. Barcelona (ESPAÑA)
- (32) **Análisis y producción de vino.** Bruce W. Zoecklein, Kenneth C. Fugelsang, Barry H. Gump, Fred S. Nury. Editorial ACRIBIA, S.A.
- (33) **Niveles de fluoruro en los vinos de las islas canarias. Años 1996 y 1997.** Olga B. Martínez Peraza, Carlos Díaz Romero, Teresa M. Borges Miquel, Juan P. Pérez. Departamento de Química Analítica, Nutrición y Bromatología. Universidad de la Laguna. Santa Cruz de Tenerife. Eugenio Díaz Díaz. Sección de Productos Agrarios, ICIA. Valle de Guerra. La Laguna. Tenerife.
<http://www.tenerife.es/Casa-vino/jornadas/pdf/PDF%20JORNADAS%20II/027-031%20Niveles%20de%20fluoruro%20en%20los%20vinos.pdf> (Última consulta 15/11/2014)
- (34) **Validación del método potenciométrico por ión selectivo para la determinación de flúor en sal, agua y orina.** Patricia Aguilar R. Departamento de Ingeniería Química, MsC. Tecnología de Alimentos y Agroindustria, División de Química, Centro Nacional de Alimentación y Nutrición, Instituto Nacional de Salud. Lima, Perú. http://sisbib.unmsm.edu.pe/bvrevistas/medicina_experimental/v18_n1-2/validacion_metodo.htm (Última consulta 16/11/2014)
- (35) **Análisis de aguas, determinación de fluoruros en aguas naturales, residuales y residuales tratadas.** Instituto Mexicano de Tecnología del Agua.
<https://www.imta.gob.mx/cotennser/images/docs/NOM/NMX-AA-077-SCFI-2001.pdf> (Última consulta 14/11/2014)
- (36) **Hanna Instruments.**
<http://www.hannainst.es/blog/fluoruros-en-agua-potable/> (Última consulta 9/11/2014)

- (37) **El consumo de vino y la paradoja Francesa.** Dr. Rafael Giménez Martínez. Dpto Nutrición y Bromatología. Facultad de Farmacia. Universidad de Granada. Campus Universitario de Cartuja. Granada.
http://sancyd.es/backoffice_web/archivos/congresos/rafelgimenez.pdf (Última consulta 17/11/2014)
- (38) **Dietary Reference Intakes (DRIs): Elements Food and Nutrition Board, Institute of Medicine, National Academies. IOM.**
http://www.iom.edu/activities/nutrition/summarydris/~media/Files/Activity%20Files/Nutrition/DRIs/New%20Material/6_%20Elements%20Summary.pdf (Última consulta 18/11/2014)